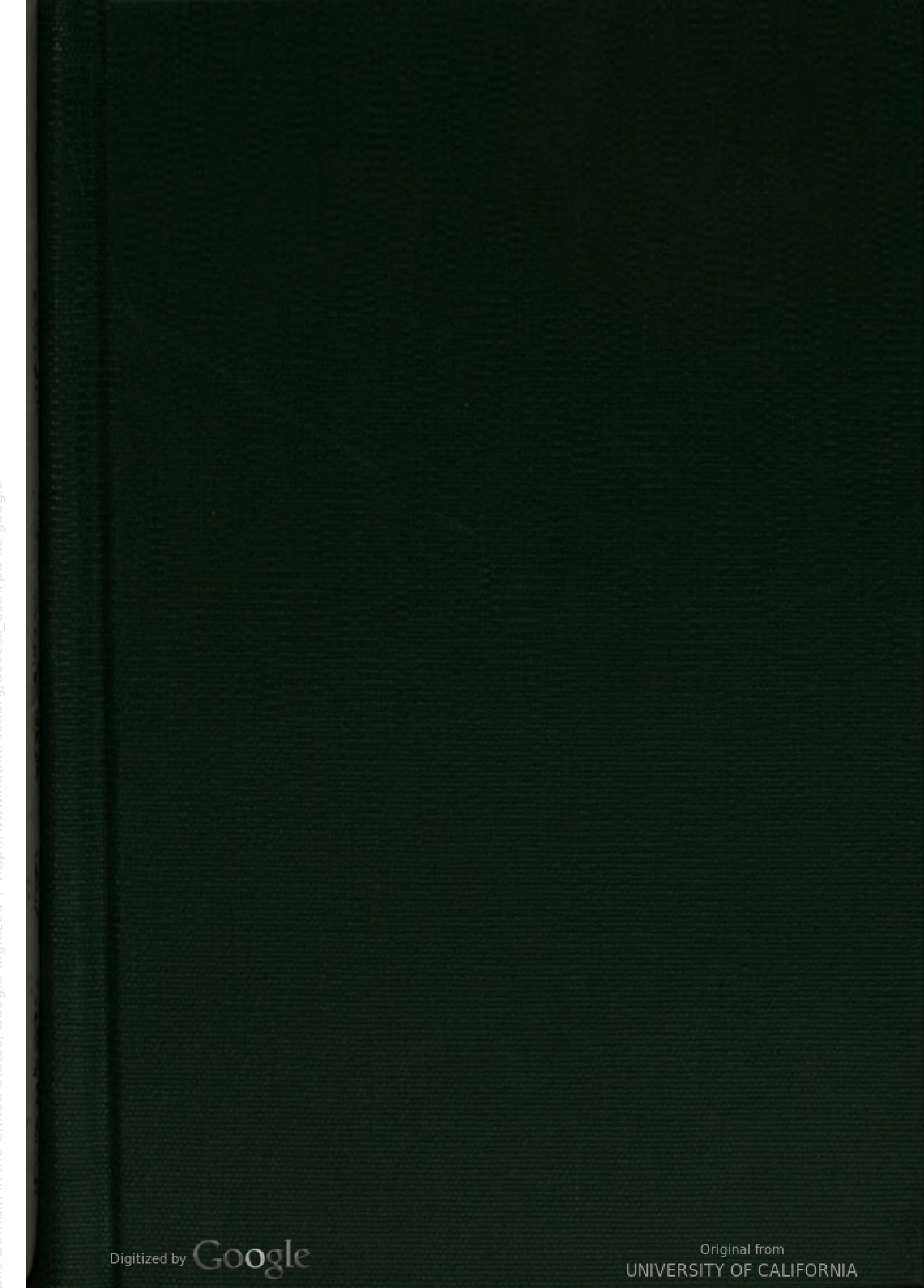
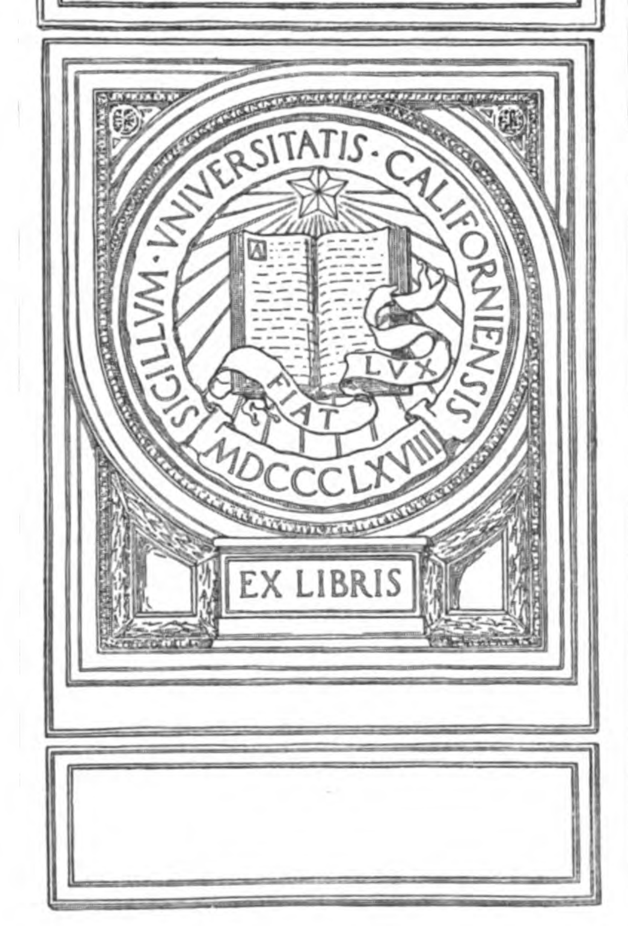

Digitized by Google
Original from
UNIVERSITY OF CALIFORNIA


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
FIAT LVX
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS





ZEITSCHRIFT

FÜR

HYGIENE

UND

INFEKTIONSKRANKHEITEN

HERAUSGEGEBEN

VON

PROF. DR. C. FLÜGGE UND PROF. DR. F. NEUFELD

GEH. MED.-RAT

GEH. MED.-RAT UND DIREKTOR DES INSTITUTS FÜR INFEKTIONSKRANKHEITEN „ROBERT KOCH" IN BERLIN

96. BAND

MIT 32 TEXTABBILDUNGEN UND 1 TAFEL



BERLIN

VERLAG VON JULIUS SPRINGER

1922

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig



Inhaltsverzeichnis.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem.)

Über die Verwendung von frischem, unabgebautem Toxin zur Herstellung und Prüfung von Diphtherieantitoxin.

Von

A. v. Wassermann und M. Ficker.

Die Frage nach der Wirksamkeit des Diphtherieheilserums, welche als im unbezweifelbar positiven Sinne beantwortet erschien, ist im Laufe der letzten Jahre wieder zur Erörterung gestellt worden. Es war hauptsächlich eine Arbeit von *Bingel*[1]), welche dieses Thema wieder aufrollte, indem dieser Autor bei Verwendung von normalem Pferdeserum im gleichen Prozentsatze Heilungen Diphtheriekranker erzielte wie mit antitoxischem Diphtherieheilserum. Diese Publikation *Bingels* rief eine rege Diskussion sowohl seitens der Kliniker wie auch von seiten der experimentellen Forscher hervor. Von ersteren waren es besonders *Feer*[2]), *Karger*[3]) u. a., von letzteren besonders *Kolle*[4]) und seine Mitarbeiter, welche dazu Stellung nahmen, und die unzweifelhafte therapeutische Überlegenheit des antitoxinhaltigen Serums gegenüber dem sog. Leerserum betonten. Die dem Diphtherieheilserum skeptisch Gegenüberstehenden heben indessen stets hervor, daß die bei der experimentellen Meerschweinchendiphtherie mittels des heutigen Antitoxins erhobenen Befunde nicht in zwingender Form auf die menschliche Diphtherie übertragen werden dürfen. Ein Hauptargument bildet dabei der Einwand, daß es nicht sicher sei, ob die in der künstlichen Kultur allmählich gebildeten und nach Ablagerung dieser Kulturen zur Herstellung und Auswertung des Diphtherieheilserums benützten Toxine die gleichen seien wie diejenigen, welche bei der akuten menschlichen Diphtherie so rasch im Organismus entstehen. Tatsächlich ist

[1]) *A. Bingel*, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **125**, H. 4—6, S. 284. 1918.

[2]) *E. Feer*, Münch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 13, 343.

[3]) *P. Karger*, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 22, S. 597.

[4]) *W. Kolle* und *H. Schlossberger*, Arbeit. a. d. Inst. f. Inf., Frankfurt a. M., 1919, H. 8, S. 3.

Dieselben, Med. Klinik, 1919, Nr. 1, 4, 23, 24 u. 31.



es bei Diphtherie weit schwieriger als bei Tetanus, die vollkommene Identität des bei der Erkrankung im Menschen auftretenden Toxins und des Kulturtoxins nachzuweisen. Bei Tetanus ist dies, sowohl beim Kranken wie an der Leiche, im Blut häufig nachgewiesen worden[1]). Die Tiere, besonders weiße Mäuse, erkranken bei der Einspritzung mit Blut von an schwerem Tetanus Erkrankten oder von an Tetanus ohne Antitoxinbehandlung Gestorbenen unter den typischen tetanischen Erscheinungen, und diese lassen sich durch Zusatz von Serum eines mit Kulturtoxin vorbehandelten Tieres vollkommen neutralisieren. Damit ist die Identität des menschlichen Tetanustoxins mit dem Kulturtoxin zwingend nachgewiesen. Für Diphtherie liegen dagegen nur sehr wenige derartige Beobachtungen vor. Seit Einführung der Serumtherapie ist ein solcher Nachweis nur sehr selten zu führen, da kaum ein Arzt es mit seinem Gewissen vereinbaren wird, einen schweren Fall von Diphtherie — und nur um solche kann es sich für den Toxinnachweis im Blute handeln — ohne die Antitoxinbehandlung zu lassen. In der Zeit vor Einführung des Serums konnten derartige Untersuchungen bei geeigneten Fällen unternommen werden, und so haben *Brieger* und *A. v. Wassermann* einen Fall beschrieben[2]), bei dem es ihnen gelungen ist, in dem Blute der 8 Stunden post mortem obduzierten Leiche eines 9jährigen post diphtheriam verstorbenen Knaben ein Toxin nachzuweisen, welches Meerschweinchen unter den typischen Erscheinungen der Kultur-Toxinvergiftung tötete. Aber, soweit aus der Literatur bekannt ist, blieb dieser Befund isoliert, und da damals das Diphtherieantitoxin noch unbekannt und deshalb der Identitätsnachweis dieses Giftes mit dem Kulturtoxin nicht absolut sicher nach unseren heutigen Anschauungen geführt werden konnte, ist auch dieser Fall nicht beweisend. Der obige Einwand wird also immer wieder erhoben, und wenn wir auf ihn näher eingehen, so ist festzustellen, daß tatsächlich im Laufe der Zeit in der Gewinnung und Prüfung des Diphtherieserums gegenüber der Anfangszeit eine Änderung eingetreten ist. Die ersten einerseits von *Behring* und *Wernicke*, andererseits von *Ehrlich* und *A. v. Wassermann* dargestellten Diphtherieantitoxine, mit welchen die für die Serumtherapie entscheidenden Behandlungsversuche an der *Heubner*schen Klinik, dem *Baginsky*schen Kaiser Friedrich-Kinderkrankenhaus und an den Städtischen Krankenhäusern in Berlin durchgeführt wurden, waren mit Toxinen gewonnen, die zumeist von frisch dem Kranken entnommenen Stämmen herrührten. Diese Kulturen waren also noch nicht allzu lange über künstliche Nährböden gegangen. Weiterhin benützte man zur Antitoxingewinnung — wenigstens in den Versuchen von *Ehrlich* und *Wassermann* — auch nicht sog. „abgelagerte“

[1]) Lit. s. *Kolle-Wassermann*, Handbuch path. Mik. 2. Aufl. Bd. IV, S. 752.
[2]) Charité-Annalen. Bd. XVII. 1892.



Toxine, sondern, sobald ein Giftkolben das Vorhandensein von für Meerschweinchen hochwertigem Toxin ergab, was meistenteils nach 1—2 Wochen der Fall war, wurde dieses Toxin sofort zur Vorbehandlung des serumliefernden Tieres benützt. In dieser Hinsicht sind im Laufe der Zeit bei den meisten Serumherstellungsstätten Änderungen eingetreten. Diese bestehen zunächst darin, daß jede Fabrik über einige für die Toxingewinnung besonders geeignete Kulturen verfügt und nun ihr Toxin beinahe ausschließlich mit diesen herstellt. Als ein besonders hochwertiger Toxinproduzent hat sich ein von *Park* im New Yorker Gesundheitsamt isolierter Stamm erwiesen, und dieser ist daher auch stark verbreitet. Weiterhin haben die Arbeiten von *Ehrlich* über die Umwandlung eines Teiles des frischen Diphtherietoxins in unwirksame, bzw. schwächer und anders toxische Stoffe, wie die Toxoide und Toxone, dazu geführt, die Diphtherietoxine, ehe sie den Tieren zwecks Antitoxingewinnung injiziert werden, erst längere Zeit, unter Umständen monatelang, „ablagern" zu lassen. Während dieser Zeit soll das Diphtherietoxin gleichsam erst reifen, d. h. den Umwandlungsprozeß in Toxoide und Toxone bis zur erreichten Konstanz durchmachen. Das gleiche gilt für das Diphtherietoxin, mit welchem die Bestimmung des Gehaltes an Antitoxineinheiten im Serum bei der Kontrolle durchgeführt wird. Auch dieses Prüfungstoxin muß erst bis zur biologischen Konstanz abgelagert sein, ehe es zur prüfungstechnischen Verwendung gelangt. Von diesen Gesichtspunkten aus könnte man also den Einwendungen der Skeptiker nicht jede Berechtigung absprechen, da es immerhin denkbar ist, daß eine junge, ihrem natürlichen Nährboden aus dem kranken Menschen frisch entnommene Kultur beim Wachstum der ersten Tage ein biologisch sich anders verhaltendes Toxin ergeben könnte, als es jahrelang über künstliche Nährböden gegangene Stämme liefern, besonders wenn die Toxinproduktion in Kulturen über Wochen ausgedehnt wird und das Toxin alsdann noch monatelang einem Abbau überlassen bleibt. Diese Einwände waren für uns Veranlassung, dieser Frage von neuem näherzutreten und zu untersuchen, ob nicht ein Serum, das mit „Frischgift" von Diphtheriebacillen hergestellt ist, im Tierversuch und späterhin auch klinisch vielleicht andere Resultate ergibt als ein solches, wie es nach den allgemein üblichen Herstellungsmethoden jetzt fast ausschließlich in den Handel gelangt. Wir beschlossen daher, Toxine aus frisch den verschiedensten Diphtheriekranken entnommenen Stämmen herzustellen und zwar nur 20—24 Stunden lang bebrütete Kulturen, bzw. deren Toxine zu verwenden. Bei diesem Gedankengang war die Tatsache maßgebend, daß die Diphtherie in ihren bösartigsten toxischen Formen eine meist sehr akut verlaufende Infektion ist, und wir deshalb vor allem die Produkte gewinnen wollten, welche seitens der jugendlichsten Generationen der



genannten Bakterienart produziert werden. Daß die Diphtheriebacillen in Kulturen schon nach kurzer Bebrütungszeit Toxin zu liefern vermögen, hatte bereits vor vielen Jahren *H. Kossel*[1]) nachgewiesen. Für uns kam es aber weiter darauf an, festzustellen, ob es möglich ist, derartige „Frischgifte" in genügender Menge von den verschiedensten Stämmen innerhalb 24 Stunden zu erhalten. Denn die Gifte mußten hochwertig sein, damit bei Behandlung größerer Tiere nicht das Antigenvolumen übermäßig gesteigert zu werden brauchte. Des weiteren mußte es gelingen, das „Frischgift" fortlaufend zu erhalten, da es im Immunisierungsplan liegen sollte, die beim Aufbewahren sich bildenden Abbauprodukte auszuschalten.

I. Über die Gewinnung von Diphtheriefrischgiften.

Wir möchten nun zunächst die technische Herstellung solcher Diphtheriefrischgifte, wie sie von dem einen von uns (*M. Ficker*) befolgt wurde, hier mitteilen. Die Herstellung der Bouillon wich nur insofern von der üblichen ab, als das verwendete Fleisch verworfenen, meist perlsüchtigen Tieren entstammte, die Verarbeitung zu Fleischwasser konnte infolgedessen nicht mit dem frischen Fleisch erfolgen, sondern sie erfolgte für gewöhnlich 2—3 Tage nach dem Schlachten der Tiere. Da das Fleisch während dieser Zeit nicht im Kühlraum gelegen hatte, so reagierte die von ihm hergestellte Bouillon in der Regel schwach alkalisch. Im letzteren Falle wurde sie mit Milchsäure zunächst auf Lackmusneutralität gebracht. Reagierte sie sauer, so erhielt sie Natronlauge bis zum Lackmusneutralpunkt. Als Indicator diente Lackmustinktur; die Alkalisierung geschah dann durch Zugabe von 7 ccm Normalnatronlauge auf den Liter lackmusneutraler Bouillon. Für alle folgenden Versuche wurden nur ganz frisch vom Menschen isolierte Diphtheriestämme benutzt. Von 57 frisch isolierten Stämmen erwiesen sich 16, also nahezu 28% als Häutchenbildner. Dieser Prozentsatz ist zu niedrig, denn anfangs wurden alle Diphtheriestämme, die in der zweiten Generation auf Bouillon kein Häutchen zeigten, nicht weiter berücksichtigt. Später aber ließ sich beobachten, daß einzelne Stämme erst in der dritten oder in noch späteren Generationen Häutchen entwickelten, während in den ersten Generationen keine Andeutung davon vorhanden war. Die Häutchenkulturen wurden alle 8 Tage von Bouillon zu Bouillon übergeimpft und bewahrten so ihre Fähigkeit, Oberflächenkulturen zu bilden. Sollte ein Gift hergestellt werden, so wurde zunächst von der Häutchenstammkultur ein frisches Bouillonröhrchen angelegt und hiervon nach 24 Stunden auf frische Röhrchen weitergeimpft. So ließ sich bei den meisten Häutchenbildnern erreichen, daß schon

[1]) *H. Kossel*, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., **19**, Nr. 25, S. 977. 1896.



nach 24 Stunden die ganze Röhrchenoberfläche mit einer Haut bewachsen war.

Die 24 Stunden alte Bouillon wurde nun durch steriles Fließpapier vorfiltriert, sodann auf *de Haën*-Filter Nr. 310 gegeben und mit Wasserstrahlluftpumpe durchgesaugt. Die Prüfung des Filtrats geschah durch subcutane Verimpfung auf Meerschweinchen von 250 g, Sterilitätsprüfung des Filtrats durch Verimpfung auf Löfflerserum und Bouillon sowohl vom Filtrat direkt wie nach Zentrifugieren.

Schon die ersten Versuche ergaben, daß sich unter den angewandten Bedingungen von 1 tägigen Diphtheriebouillonröhrchen gut wirksame Toxine gewinnen lassen, in denen beispielsweise 0,1 ccm oder 0,05 ccm die Meerschweinchen in 1—4 Tagen töteten. Es wurde nun versucht, eine Konzentrierung des Giftes dadurch zu erhalten, daß die hohe Schicht Nährbouillon in den Kulturgläsern vermindert und gleichzeitig eine möglichst große Oberfläche geboten wurde. Zunächst kamen an Stelle der üblichen Reagensgläser *Spitzröhrchen* von 13 cm Höhe mit der lichten Weite von 3,5 cm zur Verwendung. Die Verjüngung der Spitze begann bei 9 cm (von oben gemessen), noch zweckmäßiger erwiesen sich besondere *Flachkölbchen*, die von der weitesten Ausbauchung bis zur Unterlage eine möglichst geringe Entfernung haben und nicht wie die üblichen Rundkolben von der weitesten Stelle steil nach unten führen, sondern in spitzem Winkel abfallen. In der Hauptsache wurden 2 Größen von Flachkolben benutzt, erstens kleinere mit 14—16 ccm Inhalt, deren weiteste Ausbauchung innen einen Durchmesser von ca. 6 cm hatte, zweitens größere mit 25—30 ccm Inhalt mit 7,6 cm lichter Weite an der breitesten Stelle.

Während in einem gewöhnlichen Reagensglas mit 14 ccm Inhalt die Flüssigkeit in einer Tiefe von $6^1/_2$—7 cm steht und eine Oberfläche von 2 qcm hat, hat in den Flachkölbchen bei der gleichen Flüssigkeitsmenge die Schicht an den tiefsten Stellen eine Höhe von 2,2, bei den größeren Kölbchen von 2,5—3 cm, die Oberfläche der Kultur in den kleineren Flachkölbchen beträgt über 28 qcm, in den größeren Kölbchen mit 25 ccm Inhalt ca. 45 qcm.

Es treffen mithin auf 1 ccm Flüssigkeit

im gewöhnlichen Röhrchen	0,143 qcm
im Spitzröhrchen	0,64 ,,
im Flachkölbchen Größe I	2,0 ,,
im Flachkölbchen Größe II.	1,8 ,,

Wenn Giftbildung und Häutchenbildung im Zusammenhang stehen, so müssen in den Flachkölbchen sich stärkere Gifte erzielen lassen. Das ist in der Tat der Fall.



Tabelle I.

I. Austitrierung von Toxin, Diphtheriestamm 6.

Vergleichender Versuch zwischen Röhrchen und flachen Kölbchen; Inhalt je 14 ccm.

Meerschw.		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	8. Tag
413	0,05 T. Röhrchen	m. starker Strang	s. starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starke Nekrose
412	0,025 T. Röhrchen	geringes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starke Nekrose
417	0,05 T. Kölbchen	m. starker Strang	s. starkes Infiltrat	tot		
415	0,025 T. Kölbchen	m. starker Strang	s. starkes Infiltrat	s. starkes Infiltrat	tot	

II.

Vergleichender Versuch zwischen Röhrchen und flachen Kölbchen, Inhalt 15 ccm.

Meerschw.		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	8. Tag
437	0,05 T. Röhrchen	o. B.	mäßiges Infiltrat	geringes Infiltrat	o. B.	o. B.
436	0,025 T. Röhrchen	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
440	0,05 T. Kölbchen	starkes Infiltrat	tot			
439	0,025 T. Kölbchen	mittelst. Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	starkes Infiltrat	geringes Infiltrat
438	0,01 T. Kölbchen	s. geringes Infiltrat	m. starkes Infiltrat	mäßiges Infiltrat	m. starkes Infiltrat	o. B.

III. Prüfung von Toxin 41.

Vergleichender Versuch zwischen Röhrchen, kleinen Flachkolben und größeren Flachkolben.

Meerschw.		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	8. Tag
958	0,025 T. gr. Flachkölbchen	starkes Infiltrat	—	—	tot	
957	0,01 T. gr. Flachkölbchen	mäßiges Infiltrat	—	—	starkes Infiltrat	tot
956	0,005 T. gr. Flachkölbchen	mäßiges Infiltrat	—	—	starkes Infiltrat	—
961	0,025 T. kl. Flachkölbchen	starkes Infiltrat	tot			
960	0,01 T. kl. Flachkölbchen	m. bis ger. Infiltrat	—	tot		
959	0,005 T. kl. Flachkölbchen	mäßiges Infiltrat	—	tot		
964	0,025 T. Röhrchen	m. starkes Infiltrat	—	—	starkes Infiltrat	tot
963	0,01 T. Röhrchen	geringes Infiltrat	—	—	m. starkes Infiltrat	—
962	0,005 T. Röhrchen	s. geringes Infiltrat	—	—	mäßiges Infiltrat	—



Die Versuche zeigen übereinstimmend, daß in den eigens konstruierten Flachkölbchen, in denen eine möglichst große Oberfläche den Häutchenbildnern Gelegenheit zur raschesten Ausbreitung bietet, die stärkere Konzentrierung des Diphtheriegiftes in dem relativ geringeren Nährflüssigkeitsvolumen erfolgt. Es fragt sich nun, ob die Bildung derartiger junger Gifte zu den Seltenheiten gehört, wie ja für die Giftgewinnung bei der Antitoxinherstellung nur ganz wenige Kulturen geeignet sind, oder ob sie einer größeren Anzahl von Stämmen zukommt und mit einer gewissen Konstanz erfolgt. Die folgende Tabelle zeigt, in welchen Dosen diese jungen Gifte für Meerschweinchen tödlich wirkten.

Tabelle II.

Stamm Nr.	Datum	Tödliche Dosis	M. Gr.	Tot in Tagen	Starkes Infiltrat bei Dosis
4	4. I. 1919	0,05	250	4	—
4	4. I. 1919	0,025	250	6	<0,01
5	27. XII. 1918	0,05	400	4—5	0,01
5	6. V. 1919	0,025	250	—	0,01
6	27. XII. 1918	0,025	250	4	0,01
6	17. I. 1919	0,025	250	3	—
6	18. I. 1919	0,01	250	4	—
6	30. I. 1919	0,025	250	2	—
6	18. II. 1919	0,025	250	4	—
6	25. III. 1919	0,025	250	1	—
6	12. IV. 1919	0,025	250	3	—
6	29. IV. 1919	0,05	250	4	<0,01
6	3. VI. 1919	—	—	—	0,01
8	8. I. 1919	0,2	400	4	0,1
10	9. I. 1919	>0,2	400	—	0,05
11	17. I. 1919	0,025	250	4—5	<0,025 >0,01
37	6. V. 1919	0,025	250	3	—
38	6. V. 1919	0,025	250	8	—
38	20. V. 1919	0,025	250	4	<0,01
41	21. V. 1919	0,01	250	3	—
41	31. V. 1919	0,005	250	4	<0,0025
41	3. VI. 1919	>0,01	300	—	0,005
41	6. VI. 1919	0,005	250	3	—
41	24. VII. 1919	0,025	250	3	—
46	13. V. 1919	>0,025	250	—	0,025
49	21. V. 1919	0,025	250	3	<0,01
50	21. V. 1919	>0,025	250	3	>0,025
51	21. V. 1919	0,01	250	2	<0,025
58	27. IX. 1919	>0,025	250	—	0,025
59	27. IX. 1919	>0,025	250	—	0,025
60	27. IX. 1919	0,01	250	2	>0,01
62	13. I. 1920	0,025	250	3	<0,025

Unter den angewandten Kulturbedingungen konnten, wie das Beispiel von Stamm 51 zeigt, durch längere Zeit hindurch die Giftwerte auf annähernd gleicher Höhe gehalten werden.

Tabelle III.

Stamm Nr.	Datum	Tödliche Dosis	M. Gr.	Tot in Tagen	Starkes Infiltrat bei Dosis
51	3. VI. 1919	0,005	250	4	—
51	24. VI. 1919	0,0025	250	2	—
51	9. VII. 1919	0,01	250	2	0,005
51	16. VII. 1919	0,025	250	2	0,005
51	24. VII. 1919	0,025	250	3	—
51	28. VII. 1919	0,025	250	2	0,01
51	19. VIII. 1919	0,01	250	3	0,005
51	6. IX. 1919	0,025	250	2	0,005
51	17. IX. 1919	0,025	250	2	<0,01
51	26. XI. 1919	0,01	250	2	—
51	16. XII. 1919	0,01	250	2	—
51	16. I. 1920	0,005	250	3	—
51	28. IV. 1920	0,005	250	5	—

Demnach ist es gelungen, von fast $^1/_3$ der frisch isolierten Diphtheriestämme junge 1tägige Gifte zu gewinnen, die unter geeigneten Züchtungsbedingungen konstant gebildet werden und so konzentriert sind, daß ihrer Verwendung als Antigen zur Serumgewinnung nichts im Wege steht.

II. Über die Gewinnung von Diphtherieantitoxin mit unabgebauten Frischtoxinen.

Mit diesen Toxinen wurden nun 2 Pferde vorbehandelt.

Das eine der Pferde (Schwarzer) wurde subcutan immunisiert. Die Immunisierung geschah in der üblichen Weise, indem zunächst Mischungen von Diphtherieserum und Frischtoxinen eingespritzt wurden, bis eine genügende Grundimmunität erreicht war, worauf Diphtherietoxin allein ohne Antitoxinzusatz in steigenden Dosen gegeben wurde. Das Diphtherietoxin stammte stets von 20—24stündigen Kulturen, wurde durch *de Haën*sche Membranfilter völlig keimfrei filtriert und an Meerschweinchen auf seine Toxizität geprüft. Ein zweites Pferd (Brauner) wurde in der gleichen Weise intravenös vorbehandelt. Die Vorbehandlung mit Frischtoxinen erfordert naturgemäß einen weit größeren Zeit- und Arbeitsaufwand als diejenige mit konservierten abgelagerten Toxinen. Denn für jede Injektion müssen die betreffenden Toxinmengen zu dem betreffenden Tag frisch gewonnen werden. Da wir bei den Pferden zuletzt bis zu 1 Liter und darüber Injektionsdosis stiegen, läßt sich daraus bereits die technische Erschwerung gegenüber der gewöhnlichen Methode ermessen. Um Sicherheit darüber zu ge-



winnen, daß die Toxine den nötigen Toxizitätsgrad besaßen, verfuhren wir in folgender Weise. Das einzuspritzende Toxin mußte unabgebaut, d. h. völlig frisch sein, es konnte deshalb der Ausfall der Toxizitätsprüfung an Meerschweinchen nicht abgewartet, sondern das Toxin mußte sofort den Pferden injiziert werden. Infolgedessen wurde gleichzeitig damit an Meerschweinchen die Giftigkeitsprüfung ausgeführt und eine kleinere Menge des Toxins für etwaige weitere Impfung in zugeschmolzenen Röhrchen eingefroren aufbewahrt. Denn es zeigte sich, daß die ursprüngliche Giftigkeit beim Aufbewahren der Toxinlösung unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln im Eisschrank sehr rasch abnahm. Auf diese Art und Weise waren wir also nie sicher, ob die betreffende Injektion bei dem Pferde hochwirksames Toxin enthielt. Dies ergab sich vielmehr erst aus dem nachträglichen Ausfalle der Titrierung an Meerschweinchen. Um aber möglichst gesichert zu sein, daß wir den Pferden nicht öfters unwirksame Toxinlösungen vergeblich einspritzten, verfuhren wir so, daß wir zunächst einen Stamm auf seine maximale Toxinproduktion innerhalb 24 Stunden ausprüften. Wir benutzten dann stets die gleiche Bouillon, die wir immer in großen Mengen herstellten, um ein gleichmäßiges Nährmedium zu besitzen. Auf diese Art und Weise gelang es, für die Immunisierung der Pferde fast stets genügend starkes Diphtherietoxin bei nur 24stündiger Bebrütung zu gewinnen. Die Stärke der Toxinlösung war wie oben gezeigt in den meisten Fällen so, daß 0,025 ccm ein Meerschweinchen innerhalb 2—4 Tagen tötete. Die Immunisierungskurve der Pferde ergibt sich aus der beifolgenden Tabelle.

Tabelle IV.

Diphtherie-Pferd [Schwarzer[1])].

Immunisierungskurve.

Subcutane Impfung mit Frischtoxin.

Datum	ccm	
6. VIII. 1919	1,0	ccm Toxin Di 51 eingefroren und 0,00125 Di-Serum Frankfurt ½ Stunde bei 37°
13. VIII. 1919	1,5	ccm Toxin Di 51 und Serum Frankfurt wie am 6. VIII.
22. VIII. 1919	2,0	„ „ „ „ (eingefroren vom 19. VIII. 1919)
29. VIII. 1919	5	„ „ „ „ „ „ 19. VIII. 1919)
3. IX. 1919	12	„ „ „ „ „ „ 19. VIII. 1919)
10. IX. 1919	25	„ „ „ „ „ „ 6. IX. 1919)
17. IX. 1919	60	„ „ „ „ (frisches Filtrat)
23. IX. 1919	130	„ „ „ „ „ „
30. IX. 1919	280	„ „ „ „ „ „
10. X. 1919	560	„ „ „ „ „ „
17. X. 1919	1000	„ „ „ „ „ „
25. X. 1919	1300	„ „ „ „ „ „
6. XI. 1919	Blutentnahme	

[1]) Wir möchten nicht verfehlen, darauf hinzuweisen, daß das Tier bereits 16 Jahre alt war, so daß also bei einem jüngeren Tier vielleicht höhere Immunitätsgrade erzielt worden wären.

13. XI. 1919 850 ccm Di 51 (frisches Filtrat)
27. XI. 1919 1170 „ „ „ „ „
9. XII. 1919 1000 „ „ „ „ „
16. XII. 1919 1000 „ „ „ „ „
23. XII. 1919 1000 „ „ „ „ „
3. I. 1920 Blutentnahme

Serumversuch am 16. I. 1920.

13. I. 1920 700 ccm Toxin Di 51 (frisches Filtrat)
23. I. 1920 Blutentnahme (größere Menge)
4. II. 1920 700 ccm Toxin Di 51 (frisches Filtrat)
14. II. 1920 Blutentnahme

Serumversuch 16. II. und 24. II. 1920. Heilversuch 4. III. und 6. III. 1920

25. II. 1920 700 ccm Toxin 51 (frisches Filtrat)
4. III. 1920 1000 „ „ „ „ „
11. III. 1920 1200 „ „ „ „ „
23. III. 1920 Blutentnahme
25. III. 1920 600 ccm Toxin 51
6. IV. 1920 Blutentnahme (größere Menge)

Serumversuch 24. IV. 1920. Heilversuch 30. IV. 1920

29. IV. 1920 1000 ccm Toxin 51
10. V. 1920 Blutentnahme
19. V. 1920 1100 ccm Toxin 51 (frisches Filtrat)
28. V. 1920 1200 „ „ „ „ „
4. VI. 1920 1200 „ „ „ „ „
11. VI. 1920 1200 „ „ „ „ „
18. VI. 1920 1200 „ „ „ „ „
28. VI. 1920 Blutentnahme
15. VII. 1920 1000 ccm Toxin 51 (frisches Filtrat)
22. VII. 1920 1100 „ „ „ „ „
30. VII. 1920 1100 „ „ „ „ „
7. VIII. 1920 1100 „ „ „ „ „
8. IX. 1920 1000 „ „ „ „ „

Abszeß, dann sehr langsame Abheilung

28. X. 1920 300 ccm Toxin 51 (frisches Filtrat)
5. XI. 1920 600 „ „ „ „ „
12. XI. 1920 900 „ „ „ „ „
20. XI. 1920 1100 „ „ „ „ „

Das Serum unseres Pferdes wurde nun so ausgewertet, daß eine Antitoxineinheit mit 100 tatsächlich tödlichen Dosen des Frischtoxins gemischt wurde. Bekanntlich entspricht eine Antitoxineinheit derjenigen in 1 ccm Diphtherieimmunserum enthaltenen Antitoxinmenge, welche imstande ist, 100 für Meerschweinchen von etwa 250 g innerhalb 3—4 Tagen tödliche Dosen Diphtherietoxin bei der direkten Mischung zu neutralisieren. Im Anfang der Diphtherieantitoxinperiode verfuhren *Ehrlich* und *A. v. Wassermann* so, daß in der Tat in der Prüfungsdosis diese 100 tödlichen Toxineinheiten enthalten waren. Es zeigte sich aber, daß es sehr schwer war, infolge der beim lagernden Diphtherietoxin vor sich gehenden Veränderungen die tödlichen Dosen in dem Prüfungsgifte konstant zu erhalten. Vielmehr tritt nach den bekannten *Ehrlich*-

schen Untersuchungen eine Umwandlung in unwirksame Modifikationen ein, so daß die Toxinprüfungsdose wohl noch ebensoviel Antitoxin zu binden vermag, aber der 100. Teil von ihr nicht mehr imstande ist, ein Meerschweinchen zu töten. Demgemäß entspricht die heutige Prüfungsdose 100 bindenden, aber nicht mehr 100 tödlichen Einheiten. Es war also auch von Interesse festzustellen, welche Differenz im Immunisierungs- und Heilwert zwischen einem Serum besteht, das nicht nur allein mit unabgebauten Frischtoxinen gewonnen war, sondern dessen Wertigkeit entsprechend den ersten Zeiten der Antitoxinperiode auch mit wirklich 100 tödlichen Dosen Toxins bestimmt wurde. Zu diesem Behufe werteten wir ein 24stündiges Frischtoxin, welches eingefroren und damit unveränderlich gehalten war, auf seine Dosis minima letalis aus. Entsprechend den *Ehrlich*schen Arbeiten wählten wir als Dosis minima certe efficax diejenige Menge, welche subcutan ein 250 g-Meerschweinchen innerhalb 3—4 Tagen tötete. Gegen das 100fache dieser Menge wurde alsdann das Serum unserer Pferde ausgeprüft. Im folgenden geben wir einen derartigen Versuch wieder.

16. I. 1920. *Tabelle V. Serum-Mischversuch.*

Di-Toxin 51 (1täg. Filt. vom 6. I. 1920 eingefroren) + Di-Serum Schwarzer vom 3. I. 1920 und Di-Handelsserum Höchst (400fach).

Meerschw. 230 g	Mischung 1/2 Std. bei 37° subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	8. Tag
20	0,0045 Toxin 51	mäß. Inf.	—	z. st. Inf.	s. st. Inf.	tot
21	0,005 Toxin 51	mäß. Inf.	—	tot		
22	0,45 Toxin 51 + 0,0025 Serum Höchst (1 J. E.)	o. B.	—	o. B.	o. B.	o. B.
23	0,5 Toxin 51 + 0,0025 Serum Höchst	o. B.	—	o. B.	o. B.	o. B.
24	0,45 Toxin 51 + 0,01 Ser. Schwarzer	o. B.	—	o. B.	o. B.	o. B.
25	0,5 Toxin 51 + 0,01 Ser. Schwarzer	o. B.	—	o. B.	o. B.	o. B.
26	0,45 Toxin 51 + 0,005 Ser. Schwarzer	z. st. Inf.	tot			
27	0,5 Toxin 51 + 0,005 Ser. Schwarzer	o. B.	—	o. B	o. B.	o. B.

Wegen des paradoxen Ausfalls des Versuchs bei Tier 26 wurde folgender Ergänzungsversuch angestellt:

21. I. 1920. Ergänzung zum Di-Versuch vom 16. I. 1920.

Dasselbe Toxin 51 (eingefroren) und Diphtherieserum Schwarzer.

Meerschw. 250 g	1/2 Std. bei 37° subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	5. Tag
33	0,0045 Toxin 51	mäß. Inf.	s. st. Inf.	s. st. Inf kr.	tot
34	0,45 Toxin 51 + 0,0025 Serum Schwarzer	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
35	0,45 Toxin 51 + 0,005 Serum Schwarzer .	o. B	o B.	o. B.	o. B.



Aus der vorstehenden Tabelle ersehen wir, daß das Serum (Schwarzer) in der Menge von 0,0025 gegen tatsächlich 100 tödliche Dosen des Frischtoxins schützte, es also sicherlich gegenüber diesem Toxin als 400fach zu bezeichnen war. Wir haben dann das Pferd mit Frischtoxin weiterbehandelt und sind bei dem subcutan behandelten Tier (Schwarzer) bis auf 500fachen Wert gegenüber 100 tödlichen Dosen Frischtoxin gelangt, während das intravenös behandelte Pferd, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht, in derselben Zeit kaum 100fach war.

Tabelle VI.

16. II. 1920. Serum-Mischversuch

Di-Toxin 51 (1tägiges Filtrat vom 4. II. 1920 eingefroren)
+ Diphtherieserum Schwarzer (subc. Pferd), Serum vom 14. II. 1920
+ Diphtherieserum Brauner ((intravenöses Pferd)

Meerschw. 220 bis 230 g	Mischung 1/2 Std. bei 37° subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
387	0,006 Toxin 51	mäß. Inf.	m. st. Inf.	—	s. st. Inf.	tot
392	0,6 Toxin 51 + 0,015 Ser. Schwarzer	st. Inf.	st. Inf.	tot		
393	0,6 Toxin 51 + 0,002 Ser. Schwarzer	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
394	0,6 Toxin 51 + 0,0025 Ser. Schwarz.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
398	0,6 Toxin 51 + 0.01 Ser. Brauner .	m. Inf.	tot			
399	0,6 Toxin 51 + 0,1 Ser. Brauner . .	o B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.

19. II. 1920. Ergänzung zum Serumversuch vom 16. II. 1920.
Dasselbe Toxin 51 vom 4. II. 1920 und Di-Serum Schwarzer vom 14. II. 1920.

Meerschw. 230 g	Mischung 1/2 Std. bei 37° subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
671	0,007 Toxin 51	ger. Inf.	tot			
942	0,7 Toxin 51 + 0,002 Ser. Schwarzer	o. B.	o B.	o. B.	o. B.	o. B.
947	0,7 Toxin 51 + 0,0025 Ser. Schwarz.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.

Die nächste interessante Frage war nun, wie sich das mit abgebautem Toxin hergestellte, im Handel befindliche Diphtherieserum bei der Ausprüfung gegenüber den 100 Dosen unabgebauten Frischgiftes und auf der anderen Seite, unser mit Frischgift hergestelltes Diphtherieserum gegenüber dem abgebauten Standardtoxin, wie es im Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. verwendet wird, verhält. Darüber geben die folgenden Tabellen Aufschluß.

Aus den Tabellen ergibt sich folgendes Resultat: Das mit abgebautem Toxin hergestellte, aus dem Handel bezogene 400fache Diphtherieserum Höchst schützte in der Menge von 0,0025 ccm, d. h. in der 400fachen Verdünnung gegen 100 tödliche Dosen Frischgift. — Die Untersuchung des mit Frischgift hergestellten Serums Schwarzer, welches bei der



Tabelle VII.

29. XII. 1919. *Serum-Mischversuch.*

Toxin Di 51 (eingefroren vom 16. XII. 1920) + Di-Handelsserum Höchst (400fach).

Meerschw. 230 g	Mischung 1/2 Std. bei 37°, subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
485	0,004 Toxin 51	m. Inf.	—	tot	
486	0,005 Toxin 51	m. Inf.	—	tot	
487	0,006 Toxin 51	m. Inf.	st. Inf.	tot	
488	0,008 Toxin 51	ger. Inf. krank	tot		
489	0,4 Toxin + 0,0025 Serum Höchst . .	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
490	0,5 Toxin + 0,0025 Serum Höchst . .	o. B.	ger. Inf.	tot	
491	0,6 Toxin + 0,0025 Serum Höchst . .	ger. Inf.	m. Inf.	tot	
492	0,8 Toxin + 0,0025 Serum Höchst . .	ger. Inf.	tot		

24. II. 1920. *Serum-Mischversuch.*

Di-Toxin Frankfurt vom 29. I. 1920 + Di-Serum Schwarzer vom 14. II. 1920 und Di-Handelsserum Höchst (400fach)

Meerschw. 200 bis 220 g	Mischung 1/2 Std. bei 37°, subcutan	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag
479	0,13 Toxin Frankfurt	m. st Inf. tot 3^h			
496	0,13 Toxin Frankfurt + 4 ccm Serum Schwarzer (1 : 1600)	tot			
755	0,13 Toxin Frankfurt + 4 ccm Serum Schwarzer (1 : 1200)	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
25	0,13 Toxin Frankfurt + 4 ccm Serum Schwarzer (1 : 1000)	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
85	0,13 Toxin Frankfurt + 4 ccm Serum Höchst (1 : 1600)	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.

Ausprüfung gegen Frischtoxin sich als über 500fach erwiesen hatte, zeigte sich bei der Prüfung mit dem abgebauten Frankfurter Standardgift als nicht so stark, indem es diesem Gift gegenüber schwächer als das Höchster Serum war. Denn die Dose 400fach neutralisierte dieses Gift nicht; erst 300fach zugemischt war es imstande, diese offizielle staatliche Prüfungsdose vollkommen zu neutralisieren. — Daraus geht also jedenfalls das mit Sicherheit hervor, daß die Prüfung, wie sie im Frankfurter Institut durchgeführt wird, im Diphtherieserum keine Antitoxinkomponente außer acht läßt, welche etwa im Frischtoxin enthalten und im abgelagerten Toxin verschwunden sein könnte. Sie ist also keinesfalls einer Prüfung mit Frischtoxin unterlegen. Im Gegenteil stellt sie an den Antitoxingehalt des Serums höhere Ansprüche als die Prüfung mit Frischtoxin. Immerhin war es denkbar, daß nun im Heilversuch sich das Verhältnis anders herausstellen und das mit Frischtoxin gewonnene Serum den Handelssera überlegen sein konnte.

Über experimentelle Heilversuche beim Meerschweinchen mit Diphtherieserum sind in jüngster Zeit von *Kolle* und *Schlossberger*[1]) eingehende Untersuchungen veröffentlicht worden. Die genannten Autoren kommen dabei zu dem Schlusse, daß nur der Antitoxingehalt des Serums für die Heilwirkung bei Diphtherie eine Rolle spielt. Da *Kolle* und *Schlossberger* ihre Heilversuche auch mit einem Serum ausführten, das sie gemeinsam mit Dr. *Joseph* in den Höchster Farbwerken durch Immunisierung von Pferden mit lebenden Diphtheriebacillen gewonnen hatten, und sie bei diesem Serum keine Überlegenheit feststellen konnten, so sprach bereits dieser Umstand dagegen, daß das mit Frischtoxin gewonnene Antitoxin im Heilversuch eine im Vergleich mit dem bisherigen Diphtherieantitoxin überlegene Wirkung zeigen würde. Trotzdem haben wir der Vollständigkeit halber einige vergleichende Versuchsreihen auch über die Heilwirkung der beiden verschieden hergestellten Antitoxine ausgeführt. Wie *Kolle* und *Schlossberger* bereits hervorgehoben haben, hängt die Feststellung des wirklichen Heilwertes eines Diphtherieserums im Tierexperiment von der Zeit ab, welche zwischen der Infektion mit Diphtheriebacillen und der Antitoxineinspritzung verflossen ist. Wenn diese Zeit mehr als etwa 6 Stunden beträgt, so ist eine Heilung nur noch mit spezifischem Antitoxin zu erreichen. Dementsprechend infizierten wir Meerschweinchen mit einer frischgezüchteten, in ihrer Virulenz genau geprüften lebenden Diphtheriekultur subcutan und injizierten einer Serie Versuchstiere 12 Stunden später das Höchster Handelsserum, einer anderen Serie das Serum Schwarzer. Das Höchster Serum war 400fach gegen das Frankfurter Standardgift, das verwandte Serum Schwarzer war 500fach gegen 100 tödliche Dosen Frischgift (siehe obige Tab. VI).

Wie aus Tab. VIII ersichtlich ist, war das Serum Schwarzer in einer Menge von 3000 Immunitätseinheiten nach 12 Stunden wohl imstande, den Tod bei der Infektion mit $^1/_2$ oder $^1/_4$ Öse auf Löfflerserum gewachsener Diphtheriekultur stark hinauszuschieben, da die Kontrollen schon nach 2 Tagen an den gleichen Dosen starben, konnte aber den Exitus letalis nicht verhindern.

Nachfolgende Tab. IX, in welcher der gleiche Versuch 4 Tage später mit Serum Höchst ausgeführt wurde, ergab, daß 2400 Immunitätseinheiten dieses Serums 2 von 3 Tieren am Leben zu erhalten vermochten. Allerdings war die Kultur an dem mit dem Höchster Serum angestellten Versuchstage etwas weniger virulent, da die Kontrollen an der gleichen Dose erst am 5. bzw. 6. Tage starben. Aber selbst wenn man diesen Faktor berücksichtigt, ist er doch nicht genügend groß, um daraus irgendwie eine sichere Überlegenheit des mit Frischtoxin hergestellten Antitoxins gegenüber dem üblich gewonnenen Diphtherieserum her-

[1]) l. c.

6. III. 1920. *Tabelle VIII.*

Diphtherie-Heilversuch.

Kultur Di 41 (20stündig von Löfflerserum) in Bouillon susp. Vol. 0,5.
Di-Serum Schwarzer vom 14. II. 1920 nach 12 Stunden injiziert.

Meerschw. 230 g	Kultur subc. 9h 30′ abends 6. III. Serum inp. 10h morgens 7. III.	8. III.	9. III.	10. III.	11. III.	12. III.
106	1/6 Öse Di 41	tot				
108	1/4 Öse Di 41	tot				
110	1/2 Öse Di 41	tot				
	nach 12 Stunden					
107	1/6 Öse Di 41 + 6,0 Di-Ser. Schwarzer	g. ger. Inf.	ger. Inf.	f. o. B.	weich. Inf.	tot 13./14.
109	1/4 Öse Di 41 + 6,0 Di Ser. Schwarzer	ger. Inf.	mäß. Inf.	—	tot	
111	1/2 Öse Di 41 + 6,0 Di Ser. Schwarzer	tot				

leiten zu können. Wir haben das „Frischtoxinserum" dann noch auf der Diphtherieabteilung des Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhauses durch das liebenswürdige Entgegenkommen von Professor ***Finkelstein*** und auf der Diphtherieabteilung des Rudolph Virchow-Krankenhauses dank der Liebenswürdigkeit von Professor Dr. ***Ulrich Friedemann*** in einer Anzahl von Erkrankungsfällen anwenden lassen können, doch ließ sich nach den sehr sorgfältigen autoritativen Beobachtungen dieser beiden Herren ebenfalls keine Überlegenheit feststellen.

Tabelle IX.

10. III. 1920. *Diphtherie-Heilversuch.*

Kultur Di 41 (20stündig von Löfflerserum) mit Bouillon verd., Vol. 0,5.
Di-Serum Höchst 500fach nach 12 Stunden injiziert.

Meerschw. 210 bis 220 g	Kultur subcutan 9h 30′ abends 10. III. Serum inp. 9h 30′ morgens 11. III.	12. III.	13. III.	15. III.	16. III.	17. III.	18. III.
113	1/6 Öse Di 41 . .	st. Inf.	s. st. Inf.	—	tot		
114	1/4 Öse Di 41 . .	st. Inf.	s. st. Inf.	—	tot		
117	1/2 Öse Di 41 . .	st. Inf.	s. st. Inf. krank	krank tot			
	Serum nach 12 Std.						
112	1/6 Öse Di 41 + 6,0 Di Ser. Hö.	ger. Inf.	s. ger. Inf.	o. B.	o. B.	o. B.	tot
115	1/4 Öse Di 41 + 6,0 Di Ser. Hö.	mäß. Inf.	mäß. bis ger. Inf.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.
116	1/2 Öse Di 41 + 6,0 Di Ser. Hö.	mäß. Inf.	mäß. bis ger. Inf.	ger. Inf.	ger. Inf.	—	o. B.

Demgemäß kommen wir zu dem Schlusse, daß auch die jüngsten Diphtheriebacillengenerationen auf der Höhe ihrer Vitalität kein anderes Toxin als das bisher bekannte und zur Antitoxingewinnung verwendete

produzieren, so daß sowohl die Antitoxinbereitung wie die von *Ehrlich* eingeführte Antitoxinbestimmung auch heute noch den strengsten Anforderungen genügt. Wir können auch durch das Arbeiten mit unabgebautem Frischtoxin keinerlei Anhaltspunkt dafür gewinnen, daß etwa bei der akuten Diphtherieerkrankung des Menschen qualitativ andere Toxine auftreten als in der Kultur, bezugsweise den bei der Diphtherieantitoxingewinnung bisher gebräuchlichen älteren Kulturgenerationen. Die Lehre von der spezifischen Therapie mit Diphtherieantitoxin besteht unerschüttert und ebenso der von *Ehrlich* geprägte Satz, daß die Achse jeder erfolgreichen spezifischen Diphtherietherapie das Diphtheriegift ist. Auch unsere Untersuchungen erwiesen wieder diese Achse als eine qualitativ einheitliche, ganz gleich, ob junges, unabgebautes oder älteres bis zur Konstanz abgelagertes Diphtherietoxin zur Verwendung kam.



(Aus dem Institut für Kolloidforschung zu Frankfurt a. M. [Direktor: Professor Dr. *H. Bechhold*].)

Adsorptivdesinfektion in Gegenwart anderer Adsorbentien.

Von

H. Bechhold und **R. Reiner.**

Bei der praktischen Desinfektion (Stuhl, Sputum, Organismus usw.) begegnen wir komplizierten Systemen, die außer dem abzutötenden Mikroorganismus und dem Desinfiziens noch höchst ausgedehnte Oberflächen anderer Substanzen enthalten und die Desinfektionswirkung beeinflussen. Trotzdem das Problem stets vor Augen liegt, wurden bisher keine Untersuchungen vorgenommen, die durch einfachste Fragestellung zwingende Schlüsse erlaubten. — Als vor einigen Jahren der eine von uns (*Bechhold*) die Studien mit seinen Metallkohlepräparaten begann, schob sich diese Frage sehr in den Vordergrund. Bei Untersuchungen mit diesen Präparaten stellte es sich bald heraus, wie empfindlich einzelne Desinfektionsmittel gegenüber der Anwesenheit adsorbierender Grenzflächen sind.

Die *Metallkohle* von *Bechhold* besteht aus feiner Tier- oder Pflanzenkohle, auf deren Oberfläche durch ein geeignetes Reduktionsverfahren ein desinfizierend wirkendes Metall (Kupfer, Silber, Gold usw.) niedergeschlagen wird. Ähnliche Präparate wurden auch aus Bolus hergestellt. Die Vorzüge eines solchen Präparates, gegenüber einem ionisierten Schwermetall als Desinfiziens, sind das Fehlen der Ätzschädigung des Gewebes und eine langdauernde Wirkung. — Diese Vorteile haben auch kolloide Metallpräparate. — Man kann aber erwarten, daß die Adsorptionseigenschaften der Metallkohle, da, wo sie anwendbar ist, eine viel innigere Berührung zwischen Bakterien und Metall hervorrufen kann, als bei kolloiden Metallösungen. — Wie weit dies tatsächlich zutrifft, ist Gegenstand unserer Untersuchungen gewesen und das Problem gewinnt dadurch eine allgemeine Bedeutung, daß es einschließt die Frage der *Wirkungsweise feinverteilter, unlöslicher Desinfektionsmittel.*

Wie nach Untersuchungen von *Bechhold*[1]) bekannt, ist auch bei den Metallkohlepräparaten das Schwermetallion das wirksame Agens,

[1]) *H. Bechhold,* Kolloid-Zeitschr. **25,** S. 158 u. ff. (1919).



und zwar ist diese Wirkung durch den Lösungsdruck des Metalls bzw. das Löslichkeitsprodukt eines Metallsalzes bestimmt.

Man mißt üblicherweise die Desinfektionswirkung durch eine Geschwindigkeit, die Abtötungs- bzw. Hemmungsgeschwindigkeit, bei gegebenen Konzentrationen. Die Abtötungsgeschwindigkeit edlerer Schwermetalle (Kupfer, Silber, Quecksilber usw.) in ionisiertem Zustand ist schon bei sehr kleinen Metallkonzentrationen ($^1/_{100000}$ bis $^1/_{250000}$ Gramion im Liter) eine sehr große. Bei gleichen *Metall*konzentrationen in kolloidem Zustande ist diese Geschwindigkeit eine viel kleinere. Die Wirkungs*geschwindigkeit* des kolloiden Metalls hängt offenbar von der Ionisierungsgeschwindigkeit ab, da die Wirkung den Ionen zuzusprechen ist. Die Ionisierungsgeschwindigkeit des Metalls hängt ebenfalls von dem Lösungsdrucke bzw. Löslichkeitsprodukt ab. So ist es möglich, daß die Desinfektionsgeschwindigkeit, wegen der langsameren Nachbildung von Ionen, eine Verzögerung erleidet.

Der eine von uns [*Bechhold*[1])] hat versucht, die *Ionen* dadurch *zu mobilisieren*, daß er zwei verschieden edle Metalle kombinierte (z. B. Silber und Kupfer, Silber und Gold) und so ein kurz geschlossenes galvanisches Element bildete. Durch diese galvanische Kette wird eine offenbar stärkere und andauernde Strömung der Ionen bewirkt und der Prozeß der Ionennachbildung beschleunigt. Die Konzentration der Ionen wird nämlich hier allein durch den stationären Strom des kurzgeschlossenen galvanischen Elementes bestimmt, der seinerseits von der Oberfläche der Metalle und von dem Lösungsdrucke abhängt.

In anderen Fällen, in welchen die Metallionen wahrscheinlich *mit dem Metallhydroxyd in Gleichgewicht* stehen, bietet sich *eine andere Möglichkeit der Beeinflussung der Ionenkonzentration.* Damit sich die Ionenkonzentration bei großem und raschem Verbrauch der Ionen durch Bakterien nicht wesentlich verändere, ist für reichlichen Bodenkörper, hier Metallhydroxyd, zu sorgen. Dies dachten wir bei Silberpräparaten durch Verwendung gewisser Sauerstoffüberträger oder auch Oxydationsmittel zu erreichen.

Beeinflussung der Desinfektionswirkung von Silberkohle durch Sauerstoffüberträger.

Bei diesen Versuchen haben wir angenommen, daß die Silberkohle oberflächlich anoxydiert und daß die aus Silberhydroxyd stammenden Metallionen die Desinfektion ausüben. Um die Wirkung zu beschleunigen, haben wir zu den Silberkohlepräparaten Sauerstoffüberträger, wie Mn, Co, Ni, Ti, Zi, Ce-Salze bzw. -Oxyde usw., hinzugefügt. Die Methodik der Versuche war sehr einfach und dazu geeignet, annähernde

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. 1918. Nr. 11/12.



Abtötungszahlen zu erhalten. Wir wollen sie, da sie bei sämtlichen Versuchen dieselbe war, gleich hier kurz besprechen:

Wir benutzten von einem Stamm herrührende Colibacillen, die 24 Stunden vor dem Gebrauch frisch abgeimpft wurden. Aus diesen Bakterien haben wir Emulsionen bereitet, deren Gehalt wir mit Hilfe eines *Nephelometers* von *Schmidt* und *Hänsch* bestimmten[1]).

Wie noch nicht veröffentlichte Untersuchungen im „Institut für Kolloidforschung" in Frankfurt a. M. gezeigt haben, ist das Nephelometer für solche Zwecke sehr gut verwendbar. Der Abbeugungseffekt ist für weißes Licht, bei Emulsionen von gleicher Teilchengröße und Gestalt, der Zahl der Teilchen proportional. Diese Forderungen werden aber von Bakterien, die aus frischen Kulturen stammten, weitgehend befriedigt. Der Dispersionseffekt dieser Emulsion wurde mit dem Dispersionseffekt einer $^{n}/_{1000}$-$BaSO_4$-Suspension, die auf besondere Art hergestellt ist, verglichen. Wir nennen diese Suspension Standardtrübung (St.-Tr.). In Anbetracht dessen, daß unsere Desinfektionsmittel verhältnismäßig schwach waren, haben wir eine sehr verdünnte Emulsion, die 0,0375 St.-Tr. entsprach, verwendet.

Zu 10 ccm Emulsion wurden 0,4 g Silberkohle und verschiedene in den Tabellen angegebene Mengen von Zusätzen verwendet. Die Probeentnahmen erfolgten in bequemen Zeitabständen; in den ersten Versuchen durch Ösen, die auf ein Agarröhrchen verimpft wurden. Man war berechtigt, aus den zur Abtötung nötigen Zeiten auf die Desinfektionswirkung im Gemisch zu folgern. — War in einem solchen Vorversuch ein Effekt merkbar, so mischten wir 1,0, 0,2 und 0,05 ccm mit 10 ccm Agar, gossen in Platten und machten eine Zählung. Die Zusätze wurden meistens in Substanz oder in konzentrierten Lösungen hinzugefügt.

Tabelle I.

Silberkohle in Gegenwart von Sauerstoffüberträgern und Oxydationsmitteln.

Probeentnahme nach	Kohle	AgK	$MnSO_4$		$FeCl_3$		Fe_2SO_4		HO_2Cl_4	
			K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK
15′	+ + +	+ +	+ + +	+ +	+ + +	+	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +
45′	+ + +	+ +	+ + +	+	+ + +	0	+ + +	+ +	+ + +	+ +
120′	+ + +	0								
210′	+ + +	0	+ + +	+ +	+ + +	+	+ + +	0	+ + +	0

[1]) Die übliche Quantitätsbestimmung von Bakterien nach „Ösen" ist höchst ungenau. Es war deshalb schon lange das Bestreben des einen von uns (*Bechhold*), eine physikalische Methode zu finden, welche die *Trübung* einer Aufschwemmung als Grundlage des Bakteriengehalts wählt. Als geeignetes Instrument erwies sich das Nephelometer von *Kleinmann* der Firma Schmidt und Hänsch, Berlin. An Hand einer Standard-Trübung, welche ebenfall s m „Institut für Kolloidforschung" ausgearbeitet wurde, konnte gezeigt werden, daß Bakterienaufschwemmungen, welche aus einer gleichen Zahl von Ösen herstammen, oft um Hunderte von Prozenten voneinander abweichen.



Tabelle I (Fortsetzung).

Probeentnahme nach	$Ce(NO_3)_2$		$(NH_4)_3VO_4$		ThO_2		TiO_2		ZiO_2		Brenz. Katech.	
	K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK	K.	AgK
15′	+++	++	+++	0	+++	+	+++	0	+++	+	+++	++
45′	+++	++	+++	+	+++	+	+++	+	+++	+	+++	++
120′	+++	+	+++	+	+++	+	+++	+	+++	+	+++	++
210′												

0,4 g Kohle (AgK). Ag-Kohle (K) und 0,1 g Substanz auf 10 ccm Bakterienemulsion.

Die in Tab. I mitgeteilten Versuche zeigen, daß die hier zugesetzten Substanzen keinen erheblichen *fördernden* Einfluß auf die Wirksamkeit der Silberkohle aufweisen. — Anscheinend erfolgt die Anoxydierung des Metalls in dieser Anordnung nicht wesentlich rascher als im ursprünglichen Versuch (ohne Zusätze). Die Wirkung von $(NH_4)_3VO_4$ und TiO_2 bedürfte noch der Aufklärung, da der Effekt nur nach 15 Minuten in die Erscheinung tritt, bei längerer Einwirkung aber wieder verschwindet; ebenso die Anomalie bei $FeCl_3$. — Man kann in einzelnen Fällen, bei feinverteilten oxydierenden Substanzen, wie z. B. MnO_2, eine auch mit dieser groben Methode meßbare *Hemmung der Desinfektionswirkung* der Metallkohle beobachten. Auch Versuche mit MnO_2 unter Luftdurchleitung zeigten ähnliche Resultate.

Herabsetzung der Desinfektionswirkung durch indifferente Adsorbentien.

Wenn man bedenkt, daß die Metallkohle ihre Hauptwirkung an der Oberfläche der Kohle ausübt, und zwar an den dort adsorbierten Bakterien, so ist die folgende Erklärung der Herabsetzung der Desinfektionswirkung durch Hinzufügung indifferenter feinverteilter wasserunlöslicher Stoffe, wie z. B. MnO_2 naheliegend:

Ein kleiner Bruchteil der Bakterien wird auch durch die andere wasserunlösliche, pulverförmige Substanz adsorbiert. *Diese Bakterien, die nicht an der Metallkohle, sondern z. B. an MnO_2 adsorbiert sind, werden viel langsamer abgetötet.* Ähnlich erklärt sich auch die bedeutende Abnahme der Desinfektionswirkung von Magnesiumsuperoxyd (MgO_2) durch Zusatz von Kohle.

Tabelle II.

Beeinflussung der Desinfektionswirkung durch indifferente adsorbierende Stoffe.

Zeit	Ag-Kohle	Kohle	Ag-Kohle + MgO_2	MgO_2	MgO_2 + Kohle	Perborat	Perb. + K.
15′	++	+++	++	0	+++	0	+++
30′	+	+++	++	—	(45′) ++		
70′		+++	++	0	120′ ++	0	++
130′	0	+++	++				
260′	0	+++	+	0			
380′	0	+++	0				
455′	0	+++	0	0			

MgO_2 = Perborat = 0,1 g in 10 ccm. — Ag-Kohle = Kohle = 0,4 g in 10 ccm.



Hier ist die Hemmung der Desinfektion durch die Gegenwart von Kohle eine sehr große, da das Desinfektionsmittel MgO_2 nur schwach, die hinzugefügte indifferente Tierkohle aber sehr stark adsorbiert, die Bakterien also aus dem Desinfektionsbereich des MgO_2 entfernt werden.

Herabsetzung der Desinfektionswirkung durch leicht adsorbierbare Substanzen.

Die Richtigkeit der Anschauung, daß die Adsorption der Bakterien an der Metallkohle eine notwendige Vorbedingung der Desinfektion durch letztere ist, wurde auch durch den folgenden Versuch bestätigt.

Untersucht man die Wirkung der Metallkohle in Gegenwart von kolloiden Substanzen, wie z. B. Malzextrakt, Hämoglobin, Serum, dann sieht man ähnlich wie oben eine Abnahme der Desinfektionswirkung.

Tabelle III.
Durch oberflächenaktive Stoffe wird die Desinfektionswirkung der Metallkohle herabgesetzt.

Zeit	Ag Kohle	Ag Kohle + Hämoglobin	Ag Kohle + Malzextrakt	Ag-Kohle + Serum
15′	++	+++	+++	++
30′	+	+++	+++	
45′	+		.	++
75′	—	+++	+++	
150′	—	+++	+++	+

Insbesondere die Wirkung von Malzextrakt und Hämoglobin ist frappant, während die von Serum geringer erscheint.

Die Kombination von Magnesiumsuperoxyd und Silberkohle.

Durch diese Kombination zweier unlöslicher Desinfektionsmittel wollten wir ihre gegenseitige Beeinflussung untersuchen. Schon die früher erwähnten qualitativen Versuche zeigten uns, daß die Silberkohle die Desinfektionswirkung des MgO_2 abschwächt.

Um den Mechanismus dieses Vorganges festzustellen, haben wir folgenden Versuch angestellt: Wir verglichen die Desinfektionswirkung von Silberkohle und von MgO_2 in Gegenwart von Kohle mit der Desinfektionswirkung von MgO_2 und Silberkohle, einerseits bei gleicher Gesamtmenge von Tierkohle, anderseits bei gleichen Mengen von Desinfektionsmittel und verschiedenen Mengen von Tierkohle. Ein solcher Versuch wurde in 6 Gefäßen angesetzt.

Gefäß I enthielt 2 g Silberkohle in 50 ccm Bakterienemulsion.

Gefäß II enthielt 1 g Silberkohle, 1 g Kohle und 0,25 g MgO_2 auf 50 ccm Bakterienemulsion.

Gefäß III enthielt 2 g Kohle und 0,5 g MgO_2 auf 50 ccm Bakterienemulsion.

Gefäß IV enthielt 1 g Silberkohle.

Gefäß V enthielt 0,5 g Silberkohle, 0,5 g Kohle und 0,125 g MgO_2.

Gefäß VI enthielt 1 g Kohle und 0,25 g MgO_2 auf 50 ccm Bakterienemulsion.

Die Probeentnahmen folgten in bequemen Zeitabständen und enthielten 1, 0,25 und 0,05 ccm des Gemisches. Diese Mengen wurden mit ca. 10 ccm Agar bei ca. 40° gemischt und in Platten gegossen.

Tabelle IV.
Kombination von Ag-Kohle mit MgO_2.

Zeit	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
20′	8	> 100	> 100	25	> 100	> 100
60′	fast 0	> 100	3	29	> 100	> 100
100′	0	20	0	0	> 100	2

Kolonien pro ccm nach 24 Stunden.

Wie wir sehen, war die Menge der angewandten Kohle in den 3 ersten Gefäßen *gleich* (2 g). In den 3 folgenden überall 1 g. Wir konnten also annehmen, daß die *Adsorptionsfläche* in Röhren mit gleichem Kohlengehalt *gleich* war. Wenn wir diesen Versuch mit früheren Versuchen vergleichen, dann sehen wir, daß die Wirkung des MgO_2 durch die Gegenwart von Kohle stark abgeschwächt ist. Die gleichzeitige Wirkung von MgO_2 und Silberkohle liegt *unter der Wirkung der Silberkohle allein* und des *MgO_2 allein.* Wenn wir aber solche Versuche vergleichen, bei denen die *Desinfektionsmittel* in *gleichen* Mengen angewandt wurden, jedoch die *Adsorptionsflächen verschieden* groß waren, dann sehen wir, daß die Wirkung von 1 g Silberkohle allein (Gefäß IV) eine stärkere ist wie die Wirkung von 1 g Silberkohle und 1 g Kohle + 0,25 g MgO_2. Wir haben also hier die seltsame Erscheinung vor Augen, daß die *Desinfektionswirkung eines Stoffes durch Hinzufügung eines anderen für sich desinfizierend wirkenden Gemisches merklich abgeschwächt wird.* Unsere schon früher geäußerte Annahme erklärt leicht diese Erscheinungen:

1. Eine Additivität der Silberkohle + MgO_2-Wirkung ist nicht vorhanden. Die Wirkung von 2 g Silberkohle ist ja nicht die doppelte von 1 g Silberkohle + 1 g Kohle.

2. Durch die Hinzufügung größerer Mengen von Kohle (in Gefäß II doppelt soviel wie in Gefäß 1) werden die Bakterien so verteilt, daß auf gleiche Mengen von Metallkohle weniger Bakterien fallen als wenn Metallkohle allein vorhanden ist. Daß die Desinfektionswirkung aber bis zu gewissen Grenzen von der Menge der Bakterien abhängt, ist selbstverständlich. Die Gefäße IV : V : VI verhalten sich ähnlich wie I : II und III.



Es ist also auch aus diesen quantitativen Versuchen ersichtlich, daß die Adsorption und die *Konkurrenz der Oberflächen* den Desinfektionsverlauf stark beeinflußt.

Kombination eines gut adsorbierenden Desinfektionsmittels mit einem gut adsorbierbaren Desinfektionsmittel.

Da wir gefunden haben, daß die Desinfektion in Gegenwart von Kohle vorwiegend an deren Oberfläche stattfindet, haben wir nun ein solches Desinfektionsmittel untersucht, das an Kohle gut adsorbiert wird. Dazu schien uns Guajac-Harz, mit ein wenig NaOH emulgiert, geeignet zu sein. Wir verwendeten eine 1 proz. Guajac-Emulsion als Stamm-Emulsion und verwendeten hiervon so viel, daß die Gesamtkonzentration 0,33 oder 0,66% Guajac war (vgl. Tab. V). Dieses Desinfektionsmittel kombinierten wir mit Kohle und Silberkohle.

Tabelle V.

Probe-entnahme	Ag-Kohle + 0,1 Guajac	Ag-Kohle + 0,05 Guajac	Ag Kohle	Kohle + 0,1 Guajac	Kohle + 0,05 Guajac	Kohle	0,1 Guajac 0,05 Kohle
30′	++	+	0	+++	+++	+++	Kol
90′	+++	+	+	+++	+++	+++	00
180′	+	+	+	+++	+++	+++	00

Quantit. Versuch bei konstanter Menge Kohle.

Probeentnahme	Guajac	Ag-Kohle + Guajac	Kohle + Guajac	Ag-Kohle
60′	0	62	70	20
120′	0	14	60	4

Das Ergebnis dieser Versuche ist bemerkenswert. Wir konnten durch Adsorption an Kohle die Wirkung des Guajac-Harzes nicht erhöhen, sondern nur erheblich verringern. Dieser Umstand kann seine Erklärung nur darin finden, daß die Guajaclösung ihre Dispersität durch Adsorption an Kohle stark verringert. Die Wirkung der Metallkohle wurde durch Guajac ebenfalls abgeschwächt. Hierfür bieten sich 2 Erklärungsmöglichkeiten: Das Guajac kann Bakterien von der Oberfläche der Metallkohle verdrängen oder es werden Silberionen durch das Guajac-Harz von den Bakterien abgelenkt (vielleicht auch beides). — Oben haben wir gezeigt, daß ein unlösliches Desinfektionsmittel die Desinfektion eines anderen unlöslichen Desinfektionsmittels infolge seiner Adsorptionswirkung abschwächen kann. Hier konnten wir zeigen, daß ein *oberflächenaktives Desinfektionsmittel die Wirkung eines unlöslichen Desinfektionsmittels abschwächt.* Umgekehrt erleidet das oberflächenaktive in kolloider Lösung oder Emulsion befindliche Desinfektionsmittel (Guajac), falls es Stoffen mit ausgedehnter Oberfläche begegnet (Kohle), durch Adsorption eine starke Abnahme seiner Wirksamkeit.



Die praktische Wichtigkeit derartiger Möglichkeiten liegt auf der Hand. Bei der Anwendung von Silberkohle ist es von Wichtigkeit, daß das desinfizierende Metall möglichst gleichmäßig auf die einzelnen Kohle- bzw. Bolusteilchen niedergeschlagen ist und man wird es vermeiden, andere Adsorbentien (z. B. Kohle) oder adsorbierbare Desinfektionsmittel damit zu kombinieren.

Zusammenfassung.

1. Die Desinfektionswirkung eines unlöslichen Desinfektionsmittels, wie Metallkohle, wird durch feinverteilte, unlösliche, indifferente Substanzen abgeschwächt.

2. Unlösliche Desinfektionsmittel werden durch oberflächenaktive indifferente Stoffe in der Ausübung ihrer Wirkung gehemmt.

3. Die Kombination zweier praktisch unlöslicher Desinfektionsmittel führt zu keiner Additivität ihrer Wirkung, falls die adsorbierende Fläche konstant bleibt. Es tritt eine Abnahme der Desinfektionswirkung ein. Ebenso ist das der Fall, wenn die Menge des Desinfektionsmittels konstant bleibt und die Adsorptionsfläche vergrößert wird.

4. Die Wirkung eines oberflächenaktiven Desinfektionsmittels wird durch Adsorbentien abgeschwächt (Guajac-Kohle). Feinverteilte, feste Desinfektionsmittel und oberflächenaktive Desinfektionsmittel hemmen sich gegenseitig in ihrer Wirkung.



(Aus dem hygienischen Institut der Universität Erlangen.)

Über die Beeinflussung des Komplementtiters durch Proteinkörperinjektion.

Von

Karl von Angerer.

Anton Hofmann hat in dieser Zeitschrift (**93**, 18) Versuche veröffentlicht, welche ergeben, daß der stabile Agglutinintiter durch unspezifische Proteinkörper nicht beeinflußt wird. In Anbetracht dieses Befundes erscheinen mir die gleichfalls negativen Untersuchungen über die Veränderungen des Komplementtiters, welche ich im Januar und Februar vorigen Jahres im Auftrage von Prof. *L. Heim* angestellt habe, eines kurzen Berichtes wert.

Zu den Versuchen wurden zwei Kaninchen verwendet, denen wöchentlich einmal aus der Ohrvene Blut entnommen wurde. Zur Bestimmung des Komplementgehaltes wurde gewaschenes Hammelblut und die einfach lösende Dosis des Amboceptors mit fallenden Mengen des 1 : 10 verdünnten Kaninchenserums zusammengebracht, mit Kochsalzlösung zum gleichen Volumen aufgefüllt und das Ergebnis nach zweistündiger Bebrütung bei 37° abgelesen. Die Titergrenze war weniger scharf als bei Verwendung von Meerschweinchenkomplement und lag bei beiden Tieren zwischen 0,1 und 0,075 ccm unverdünnten Serums.

Zunächst wurden beide Tiere ohne Vorbehandlung zweimal innerhalb zweier Wochen in dieser Weise untersucht und das Konstantbleiben des Titers festgestellt. Dann erhielt das eine Versuchstier jeweils 2—4 Tage vor der Blutentnahme Einspritzungen von Caseosan, während das andere unvorbehandelt blieb und als Kontrolle diente. Caseosan soll, zufolge der den Ampullen beigegebenen Gebrauchsanweisung der herstellenden Firma, nach *G. Lindig*, Freiburg, bei fieberhaften Erkrankungen in Mengen von $^1/_4$ ccm steigend bis zu 10 ccm, nach *A. Zimmer*, Berlin, bei Arthritiden, die auf Stoffwechselanomalien beruhen, in Mengen von 0,05—0,2 ccm, bei Gelenkrheumatismus und gonorrhoischen Gelenkaffektionen in Mengen von 2—6 ccm, bei anderen Arthritiden und Neuritiden in Mengen von 0,2—9,5 ccm, im Durchschnitt von 0,5 ccm injiziert werden. Da aus diesen schwankenden Zahlen die richtige Menge für das



Kaninchen sich nicht berechnen läßt, injizierte ich das erstemal 0,1 ccm einer 1 : 10 verdünnten Caseosanlösung, die folgenden Male 0,1; 0,2; 0,4 ccm der unverdünnten Lösung, was etwa der Einspritzung von bzw. 1,25, 2,5, 5,0 und 10,0 ccm beim Menschen entspricht. Während der Versuche nahmen die Tiere an Gewicht etwas zu.

Eine Änderung des Komplementgehaltes war nicht nachweisbar; die Versuche wurden daher nach der vierten Woche als aussichtslos abgebrochen.

Somit scheint das Komplement ebensowenig wie nach den *Hofmann*-schen Versuchen der Agglutinintiter durch Proteinkörperinjektionen verändert zu werden.

(Aus dem Hygienischen Institut der Univ. Berlin. [Stellvertr. Direktor: Prof. Dr. *Bruno Heymann*].)

Versuche über beim Sprechen verschleuderte Tröpfchen.

Von

Dr. Walter Strauß,
Assistent am Institut.

Mit 8 Textabbildungen.

Die Tröpfcheninfektion als höchst wichtige Übertragungsquelle bei allen tiefliegenden, mit Husten einhergehenden ansteckenden Erkrankungen der Atmungsorgane ist heute wohl allgemein anerkannt. In den zahlreichen, der Tuberkuloseforschung dienenden Arbeiten *Flügges* und seiner Schüler *Heymann*, *Ziesché*[1]), *Hippke*[2]) sind die beim Husten verstreuten „Bronchialtröpfchen" morphologisch genau untersucht und durch Tierexperimente über ihre Gefährlichkeit keine Zweifel gelassen worden. Auch bei anderen übertragbaren Krankheiten ist der Nachweis der spezifischen Erreger in den Bronchialtröpfchen gelungen, so z. B. *Chiewitz* und *Meyer*[3]), die *keuchhusten*kranke Kinder über Platten mit geeigneten Nährböden hinweghusten ließen und damit so gute Ergebnisse hatten, daß sie diese „Hustenaussaatmethode" für diagnostische Zwecke, besonders zu Beginn der Erkrankung, der üblichen Ausstrichmethode vorziehen. Mit gleicher Technik konnte *Löwenthal*[4]) gelegentlich der *Grippe*epidemie 1918 bei 25% seiner Fälle den *Pfeiffer*schen Influenzabacillus feststellen — auf einer einzigen Platte bis zu 85 Kolonien — „Befunde, die zeigen, eine wie große Gefahr die hustenden Grippekranken für ihre Umgebung bilden (Tröpfcheninfektion)". Man wird berechtigt sein, auch für andere Erkrankungen mit ähnlicher Lokalisation, wie z. B. Pneumonie und Pest, die Bronchialtröpfchen als Infektionsquelle anzusprechen und die notwendigen praktischen Folgerungen zu ziehen.

---

[1]) *C. Flügge*, Die Verbreitungsweise und Bekämpfung der Tuberkulose. Leipzig. 1908.

[2]) *Hippke*, Neue Versuche über die Bedeutung der Tröpfcheninfektion für die Ausbreitung der Lungenschwindsucht. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93**, 122. 1921.

[3]) *Chiewitz* u. *Meyer*, Eine Methode zur Frühdiagnose des Keuchhustens („Die Hustenaussaatmethode"). Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 27.

[4]) *Löwenthal*, Bakteriologische Untersuchungen bei der diesjährigen Grippeepidemie. Berl. klin. Wochenschr. 1918, Nr. 49.



So gesichert also die epidemiologische Bedeutung der beim *Husten* verstreuten *Bronchialtröpfchen* ist, so wenig Klarheit herrscht noch über die Rolle der beim *Sprechen* verspritzten „*Mund*tröpfchen". Früher wurden zwar immer die beim Husten und Sprechen verschleuderten Tröpfchen als etwa gleichwertige Ansteckungsquellen angesehen. Nachdem aber durch die Untersuchungen *Zieschés* und *Hippkes* die geringe Gefährlichkeit der — meist nur Mundbakterien enthaltenden — Mundtröpfchen für die Tuberkuloseübertragung nachgewiesen wurde, hat *Flügge* für die Lungenphthise die Bronchialtröpfchen immer mehr in den Vordergrund gerückt, ohne jedoch die Bedeutung der Mundtröpfchen bei *anderen* Krankheiten abzulehnen. Besonders *Ziesché* und *Königer*[1]) wiesen auf die Möglichkeit der Verbreitung von Diphtherie und Streptokokkenanginen durch Sprechtröpfchen hin. Indessen sind experimentelle Arbeiten, die solchen Vermutungen eine sichere Stütze geben könnten, bisher nur recht selten, an Kranken überhaupt nur einmal ausgeführt worden, wie die folgende Übersicht zeigt.

Laschtschenko[2]) ließ Versuchspersonen, die den Mund mit einer Prodigiosusaufschwemmung ausgespült hatten, 40—60 Minuten über Agarplatten in einer Entfernung von 40—180 cm laut oder leise hinwegsprechen und stellte nach 48stündiger Bebrütung bei 22° die Anzahl der Prodigiosuskolonien fest. Es zeigte sich, daß bei *leisem* Sprechen meist nur ganz vereinzelte Keime ausgestreut wurden, bei *lautem* in einem Umkreise von etwa 40—50 cm etwas mehr (bis 75 Kolonien auf einer Platte), darüber hinaus gleichfalls nur sehr wenig.

Durch diese Beobachtungen wurde *Hübener*[3]), ein Schüler von *Mikulicz*, zu Versuchen angeregt, ob die Verstreuung von Mundtröpfchen durch Masken verhindert werden kann. Was uns an seiner Arbeit besonders interessiert, sind Technik und Ergebnis der *ohne* Maskenschutz vorgenommenen Kontrollversuche: Nach Ausspülung des Mundes mit einer Prodigiosusaufschwemmung sprachen Versuchspersonen in einer Entfernung von 50 cm über vier in Quadratform aufgestellte Agarplatten 10 Minuten mit gewöhnlicher Stimme hinweg, wobei der Kopf, der Stellung eines Operateurs entsprechend, leicht über die Platten geneigt wurde. Es fanden sich dann auf den vier Platten zusammen durchschnittlich 500 Kolonien.

Die gründlichsten Untersuchungen über die Mundtröpfchen stammen von *Königer*[4]), der, mit gleicher Technik wie *Laschtschenko* und *Hübener*,

[1]) *Königer*, Untersuchungen über die Frage der Tröpfcheninfektion. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **34**. 1900.

[2]) *Laschtschenko*, Über Luftinfektion durch beim Husten, Niesen und Sprechen verspritzte Tröpfchen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **30**. 1899.

[3]) *Hübener*, Wundinfektion vom Munde aus und ihre Verhütung. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **28**, 348. 1899.

[4]) *Königer*, a. a. O.

vor allem die *Flugweite* der beim Husten, Sprechen und Niesen verstreuten Tröpfchen eingehend studiert hat. Bei seinen Versuchen handelte es sich also, wie bei *Laschtschenko*, wesentlich um den Nachweis der durch die Luft vermittelten Übertragung auf *weitere* Strecken: daher stellte er die nächsten Agarplatten erst in einer Entfernung von 100 cm auf. Besonders suchte er die verschieden starke Verspritzung bei leiser, lauter und Flüstersprache festzustellen. In allen diesen Versuchen ließ sich die Verschleppung einzelner Keime auf 6—7 m nachweisen, jedoch war die Anzahl des Prodigiosuskolonien, selbst auf den nächststehenden Platten, sehr gering; sogar bei „übertrieben scharfem", $^1/_4$ Stunde dauerndem Deklamieren fanden sich in 1 m Entfernung nur 22 Prodigiosuskolonien auf der Platte, bei leisem und mäßig lautem Sprechen nie mehr als 2—3 Kolonien im Durchschnitt. Die Prüfung einzelner Konsonanten und Vokale ergab eine besonders starke Verspritzung bei den Konsonanten t, p, k, z, f und b.

Sprechversuche an *Kranken* sind nur von *Schäffer*[1]) an Leprösen angestellt und von *Hübener* — zur Prüfung des Maskenschutzes — wiederholt worden. *Schäffer* ließ zwei Lepröse mit starker Schleimhautaffektion des Mundes und der Nase über Glasplatten sprechen und fand, daß „im Verlaufe von 10 Minuten Tausende von Bacillen" (bis 185 000) in Tröpfchen ansgeworfen wurden. Die durch die Schwellung von Lippen und Zunge erschwerte Artikulation, sowie der gesteigerte Speichelfluß hatten nach *Schäffer* besonderen Anteil an der massenhaften Verspritzung. *Hübeners* Versuche an einem dieser Fälle führten zu ganz ähnlichen Resultaten.

Während diese Lepraversuche als einwandfrei angesprochen werden dürfen, lassen sich gegen die vorher angeführten Untersuchungen an Gesunden, soweit sie eine Grundlage für praktische Folgerungen bilden sollen, verschiedene Bedenken nicht unterdrücken. Die konzentrierte Prodigiosusaufschwemmung, deren sich *Laschtschenko*, *Hübener* und *Königer* durchweg bedient haben, hinterläßt bei vielen Menschen im Munde einen unangenehmen, oft widerwärtigen Geschmack, wodurch mit größter Wahrscheinlichkeit der Speichelfluß gesteigert und damit die Gefahr übertriebener Versuchsbedingungen herbeigeführt wird. Zwar kam es jenen Autoren, besonders *Hübener* und *Königer*, bei ihren vergleichenden Untersuchungen mehr auf die Erzielung relativer als absoluter Ergebnisse an, so daß *Königer* Übertreibungen sogar für erwünscht hielt; doch bleibt der Einwand, daß Schlüsse für die Praxis sich aus solchen Versuchen nur mit großer Einschränkung ziehen lassen, zu Recht bestehen. Ferner erheben sich Bedenken gegen die von *Laschtschenko* und *Königer* gewählten, fast ausschließlich *weiten* Ent-

[1]) *Schäffer*, Über die Verbreitung der Leprabacillen von den oberen Luftwegen aus. Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. **43**. 1898.



fernungen. Die Prüfung der *Flugweite* gibt durchaus kein rechtes Bild von der durch Mundtröpfchen drohenden Gefahr. Denn die Infektionsmöglichkeit durch vereinzelte, weit fliegende Tröpfchen ist sehr gering. Spricht doch *Flügge* selbst die Infektionsgefahr seitens der viel weiter tragenden Bronchialtröpfchen bereits in 60 cm Entfernung für unbedeutend, in 80 cm gleich 0 an. Nicht die *Flugweite*, sondern die direkte Verstreuung auf nahe Entfernung muß festgestellt werden, will die Versuchsanordnung dem natürlichen Infektionsmodus gerecht werden.

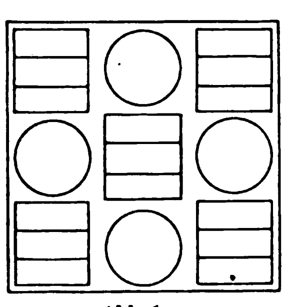
Nach alledem schien es erforderlich, die Bedeutung der Mundtröpfchen einer erneuten eingehenden Bearbeitung mit einwandfreier Methodik an Gesunden und Kranken zu unterziehen, eine Aufgabe, die ich auf Anregung von Herrn Geheimrat *Flügge* im folgenden zu bearbeiten versucht habe.

Methodik.

Entsprechend dem praktischen Zweck der Untersuchungen wurde die Verspritzung nur auf nahe und nächste Entfernung geprüft, d. h. nicht über 40 cm hinaus.

Zum Nachweis der Tröpfchen standen zwei Wege offen:

a) *Mikroskopisch*, d. h. Sprechen gegen Objektträger, eine Methode, die schon von *Laschtschenko* und *Heymann* mit gutem Erfolg bei hustenden Phthisikern und von *Schäffer* bei seinen Lepraversuchen angewandt wurde. Diese „Objektträgermethode" bot den Vorteil, gleichzeitig über die Morphologie der Tröpfchen Aufschluß zu geben, erregte aber Bedenken, ob auf diese Weise alle, besonders auch die feinsten Tröpfchen nachweisbar sind.


Abb. 1.

b) *Kulturell*, d. h. die von den meisten früheren Untersuchern geübte Prodigiosustechnik („Plattenmethode"). Hier bestand die oben erwähnte Gefahr übertriebener Versuchsbedingungen infolge verstärkten Speichelflusses. Zur Vermeidung dieser Schwierigkeit läge es nahe, Sprechversuche in durchaus natürlicher Weise ohne Prodigiosus anzustellen. Aber diese Methode schaltet infolge der dabei unvermeidlichen Verunreinigungen der Platten durch Luftkeime, die zum großen Teil von Mundkeimen nicht zu unterscheiden sind, von vornherein aus.

Zur Auswahl der besseren Methodik wurden folgende *Vorversuche* angestellt: Auf einem Holzbrett wurden in schachbrettartiger Anordnung (vgl. Abb. 1) vier Agarplatten und 5 mal drei Objektträger (je drei der Fläche einer Platte etwa entsprechend) montiert, und das Brett in einer Neigung von ungefähr 40° zur Horizontalen vor einer sitzenden Versuchsperson (S.) *so* (vgl. Abb. 2) auf einen Tisch gestellt, daß die unterste Platten- und Objektträgerreihe ca. 10 cm von



der Mundöffnung entfernt war, die oberste ca. 35 cm und mit ihr in mindestens gleicher Höhe. Mit einer kurz vorher frisch hergestellten Prodigiosusaufschwemmung (nach *Känigers* Vorgang 3 Schrägagarkulturen in $^1/_3$ Wasserglas Leitungswasser (ca. 50 ccm) fein zerrieben) spülte und gurgelte die Versuchsperson die Mundhöhle gründlich aus und las darauf mit lauter Stimme $^1/_4$ Stunde lang ununterbrochen vor. In einem zweiten Versuch wurden die Platten und Objektträger gegeneinander ausgewechselt, so daß an Stelle der im ersten Versuch benutzten Platten jetzt Objektträger traten und umgekehrt. Nach dem Versuch wurden die Platten in den Brutschrank von 22° eingestellt und nach 48 Stunden ausgezählt. — Zur leichteren Auszählung der auf den Objektträgern abgesetzten Tröpfchen wurden zunächst verschiedene Färbemethoden versucht. Da es sich aber zeigte, daß die Tröpfchen die Farbe sehr schlecht annahmen, dabei sogar das ihnen in ungefärbtem Zustand eigene Lichtbrechungsvermögen verloren, wurde von jeder Färbung Abstand genommen und die Tröpfchenzahl mit Hilfe der binokularen Lupe bei 50facher Vergrößerung und leichter Abblendung bestimmt, was bei einiger Übung einwandfrei gelingt. Einen Überblick über die Versuchsergebnisse gewährt Abb. 3.

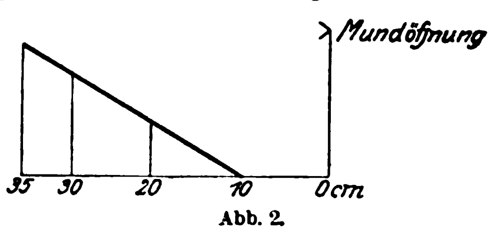
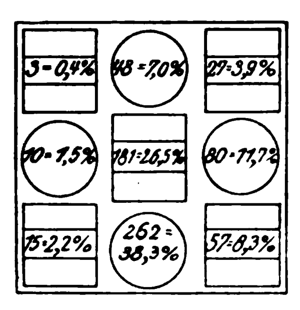


Abb. 2.



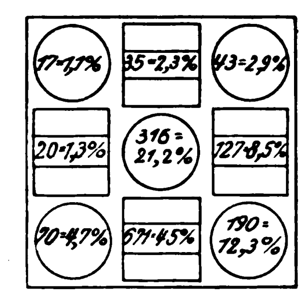


Abb. 3.

Beide Versuche weisen insofern einen Unterschied auf, als im zweiten Versuch die Tröpfchenzahl auf sämtlichen Platten und Objektträgern höher ist als im ersten. Sieht man aber von dieser, wahrscheinlich durch eine bacillenreichere Aufschwemmung bedingten Differenz der absoluten Werte ab und berechnet die relative Keim- bzw. Tröpfchenzahl in Prozenten der Gesamtmenge, so ergibt sich, daß die Tröpfchenzahl auf den Objektträgern des *einen* Versuchs der Kolonienzahl auf der korrespondierenden Platte im *anderen* Versuch gut entspricht. Damit wäre die Gleichwertigkeit der Objektträger- und der (komplizierteren) Plattenmethode erwiesen.



Um nun zu prüfen, ob die Verwendung von Prodigiosus wirklich die früher angenommene, gesteigerte Ausstreuung zur Folge hat, wurde ein Versuch ohne Prodigiosus unter sonst ganz gleichen Versuchsbedingungen angestellt. Das Ergebnis gibt Abb. 4 wieder:

Es zeigt sich, daß die Tröpfchenzahl ganz erheblich hinter der bei den vorangegangenen Prodigiosusversuchen zurückbleibt. Dieser Versuch wurde noch dreimal mit anderen Versuchspersonen wiederholt, immer mit dem Resultat, daß bei Prodigiosusbenutzung die Objektträger und Platten mehr Tröpfchen und Keime aufwiesen, als die Kontrollen. Die Differenz hing bei den einzelnen Versuchspersonen von dem individuell verschieden starken Ekelgefühl und damit verbundenen Speichelfluß ab.

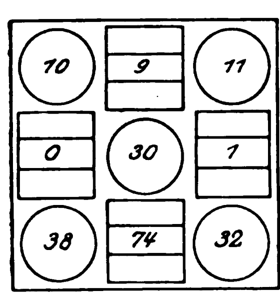


Abb. 4.

Auf Grund dieser Erfahrungen wurde von der Verwendung des Prodigiosus in allen folgenden Versuchen Abstand genommen und ausschließlich die Objektträgermethode zum Nachweis der Tröpfchen benützt.

Sprechversuche an Gesunden.

Zur ersten Orientierung über den ungefähren Umfang des Ausstreuungskegels eines gesunden Menschen wurde ein Vorversuch an einem Feld von drei mal zehn nebeneinanderliegenden Objektträgern angestellt. Anordnung im übrigen genau wie vorher: Ein im Winkel von ca. 40° aufgestelltes Brett, die untersten Objektträger in 10 cm, die obersten in 30 cm Entfernung von der Versuchsperson. Die Mundöffnung lag mindestens in Höhe der obersten Objektträger. Während des Versuchs wurde für möglichst ruhige Luft gesorgt. Die Ausstreuung gab folgendes Bild (Abb. 5).

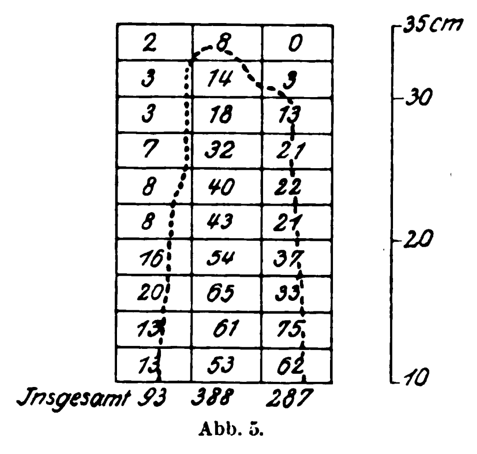


Abb. 5.

Versuch 4 (S, eine Viertelstunde laut gesprochen).

Die punktierte Linie stellt die Grenze dar, außerhalb der fast gar keine Tröpfchen mehr zu finden waren. Der Ausstreuungskegel ist demnach recht klein: Über 20 cm hinaus weist nur die mittlere Reihe Objektträger eine einigermaßen wesentliche Tröpfchenzahl auf. Ich habe deshalb in den weiteren Versuchen stets in der mittleren Reihe nur 8, in den seitlichen nur je 4 Objektträger benutzt, eine Anordnung, die sich als



völlig ausreichend erwies. (Die in diesem und in den vorhergehenden, von der gleichen Person ausgeführten, Versuchen auffallend starke Verspritzung nach der rechten Seite hängt mit einer leichten Anomalie der Zahnstellung zusammen, auf die später noch kurz eingegangen werden soll.)

In der angegebenen Weise wurden Versuche an 8—13jährigen Knaben in dem wenig benutzten Konferenzzimmer einer Berliner Gemeindeschule angestellt.[1]) Versuchsdauer gleichmäßig 15 Minuten.

Zur Übersicht stelle ich die Anzahl der Tröpfchen auf den acht mittleren Objektträgern nebeneinander, die seitlichen zeigten durchweg eine ca. 3fach geringere Tröpfchenzahl. (Vgl. Tab. I.)

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Stärke der Sprache	sehr laut	mäßig laut				laut	zieml. laut	mäßig laut			leise
Tröpfchenzahl auf den acht mittleren Objektträgern	11	10	7	13	6	0	0	0	1	1	0
	17	14	6	22	6	3	1	0	4	5	0
	26	21	7	30	12	8	3	0	5	2	0
	50	35	25	39	33	10	5	1	9	3	1
	110	41	25	51	42	12	9	6	15	5	3
	150	64	35	106	48	19	16	9	19	11	3
	220	64	50	140	70	51	18	14	23	5	7
	355	48	71	113	80	71	23	20	26	10	8
Insgesamt:	949	302	226	514	297	174	75	50	102	42	22

In Bestätigung des Vorversuchs zeigt sich wieder, daß die Ausstreuungsfläche im ganzen klein ist, wenn auch die Tröpfchenzahl innerhalb der begrenzten Zone recht erheblich sein kann. Die Fälle ließen sich, wie auch in der Tabelle angedeutet, zwangslos in 2 Gruppen scheiden: Versuch 5—9 mit erheblicher Tröpfchenzahl, Versuch 10—15 mit viel geringerer Verstreuung.

Diese merkwürdige Verschiedenheit hat folgenden Grund: In den Versuchen 5—9 handelt es sich um Kinder, die eine Reihe von Gedichten auswendig hersagten oder aus einem vorgehaltenen Lesebuch längere Kapitel ablasen; in den Versuchen 10—15 dagegen um etwa gleichaltrige Kinder, die nichts auswendig wußten, und die ich zählen und vorgesprochene Sätze und Worte nachsprechen ließ.

Dieser Unterschied muß offenbar von erheblicher Bedeutung sein; denn während in dem einen Fall längere Zeit ununterbrochen gesprochen wird, schaltet man im anderen zwischen zwei Sprechzeiten eine mehr oder weniger lange Pause ein, die von der Versuchsperson unwillkür-

[1]) Herrn Schularzt San.-Rat Dr. *Bernhard* sowie Herrn Rektor *Kraft* sage ich für ihr freundliches Entgegenkommen meinen besten Dank.



lich dazu benutzt wird, angesammelte Speichelflüssigkeit herunterzuschlucken. Ein Beispiel aus der Praxis beleuchte die Wichtigkeit dieser Unterscheidung noch schärfer: Gewöhnt man Menschen, die beim Sprechen sehr viel Mundtröpfchen verstreuen, daran, ihren Speichel regelmäßig herunter zu schlucken, so kann man — wie mir Herr Prof. *Gutzmann* aus seiner Erfahrung freundlichst mitteilte — diese höchst lästige Verspritzung von Speicheltröpfchen auf das normale Maß zurückführen. (Als Folge davon, daß die Befeuchtung der Rachenschleimhaut durch den Speichel fortfällt, weil ein großer Teil der Mundflüssigkeit verspritzt wird, stellt sich bei längerem Sprechen das bekannte unangenehme Trockenheitsgefühl im Halse ein.)

Einen wie großen Einfluß der Feuchtigkeitsgehalt der Mundhöhle auf die Größe der Verstreuung hat, war auch experimentell leicht nachzuweisen: Ich machte mit den Kindern von Versuch 10 und 15, die sehr wenig verstreut hatten, folgenden neuen Versuch: Beide Knaben bekamen einen Malzbonbon, den sie in ganz zerkleinertem Zustand seitlich zwischen Zahnfleisch und Wangenschleimhaut klemmten und während der Dauer des Versuchs dort behielten. Die Sprache wurde dadurch *in keiner Weise behindert*, nur eine gesteigerte Speichelsekretion angeregt. Das Ergebnis war, ebenfalls durch die Tröpfchenzahl auf der mittleren Objektträgerreihe demonstriert, in

Versuch 10:	Ohne gesteig. Speichelfluß . .	20,	14,	9,	6,	1,	0,	0,	0	= 50
	Mit gesteig. Speichelfluß . .	50,	56,	43,	26,	17,	8,	3,	0	= 203
Versuch 15:	Ohne gesteig. Speichelfluß . .	23,	18,	16,	9,	5,	3,	1,	0	= 75
	Mit gesteig. Speichelfluß . .	123,	86,	66,	36,	33,	20,	10,	3	= 371

Also unter sonst gleichen Bedingungen im einen Fall die vierfache, im anderen die fünffache Ausstreuungszahl.

Daß Stärke und Deutlichkeit der Sprache ebenfalls in sehr erheblicher Weise auf die Tröpfchenverstreuung einwirken, ist schon von *Laschtschenko* und *Königer* festgestellt und auch aus unseren Versuchen ersichtlich. *Bei gewöhnlicher, ruhiger, ziemlich leiser Sprache wird — selbst bei Prodigiosusverwendung — wenig verstreut.*

Neben diesen wesentlichen Faktoren für die physiologische Mundtröpfchenverstreuung — Speichelmenge und Stärke der Sprache — sei noch kurz auf gewisse Konstitutionsanomalien hingewiesen, die eine gesteigerte Verspritzung bei sonst gesunden Menschen bedingen: Fehler der Zahn-, Mund- und Sprachbildung, z. B. schiefe Stellung und besonders Lücken in der Reihe der Schneidezähne, die gleichsam eine Barriere für den Speichel bilden, Hasenscharten usw., wie überhaupt alle Veränderungen, die den natürlichen Sprechmechanismus stören, haben erhebliche Tröpfchenverstreuung zur Folge. Menschen mit bestimmten Sprachfehlern z. B. Lispeln, das durch seitliche Stellung der Zunge hervorgerufen wird (Simulatio lateralis), verspritzen oft außerordentlich stark. Welchen Ein-



fluß schon ganz leichte Anomalien der Zahnstellung haben, sei kurz an einem Beispiel demonstriert. Versuchsperson S. (Versuch 1—4) hat einen etwas schräg nach außen stehenden, rechten oberen Schneidezahn, so daß eine kleine Lücke von ca. 1 mm Breite vorhanden ist. Als Folge zeigt sich durchweg in allen Versuchen eine gesteigerte Ausstreuung nach der rechten Seite hin. —

An dem so gewonnenen Objektträgermaterial wurden auch über die Morphologie der Mundtröpfchen einige Beobachtungen gemacht, über die ich in Ergänzung der eingehenden Untersuchungen von *Heymann*, *Ziesché* und *Königer* kurz berichten will. Die Größe der Mundtröpfchen schwankt außerordentlich, ähnlich wie *Hippke* dies neuerdings wieder für die Bronchialtröpfchen festgestellt hat. Die kleinsten irgendwie auffindbaren sind 25 μ groß, reichen also fast an die kleinsten Bronchialtröpfchen (15 μ) heran. Die größten betragen über 2000 μ. Die Angabe einer Durchschnittsgröße ist nur in weiten Grenzen möglich; die Mehrzahl dürfte zwischen 100 und 400 μ liegen. Wie in der Größe finden sich auch im Inhalt starke Schwankungen. Es gibt Tröpfchen, fast durchweg kleine, die glashell sind, überhaupt keinen zelligen Inhalt haben und nach Färbung ab und zu Bacillen im feinsten Mucingerüst zeigen. Bei allen größeren Tröpfchen ist das Schleimgerüst gut ausgeprägt, darin deutlich erkennbar Epithelien mit Bakterienhaufen, Zelltrümmer usw.; Leukocyten und Mundspirochäten habe ich bei Gesunden niemals gefunden. Was die Flugfähigkeit dieser verschiedenen Tröpfchen betrifft, so ist hervorzuheben, daß die kleinen und kleinsten (25—75 μ) scheinbar einen außerordentlich kleinen Aktionsradius haben; sie setzen sich fast alle auf den drei ersten Objektträgern, also in einer Entfernung bis höchstens 20 cm ab. In 30 cm Entfernung habe ich nur verschwindend selten ein kleines Tröpfchen, dagegen fast stets die größten gefunden. Dieser auffällige Befund ist vielleicht damit zu erklären, daß die feinsten Tröpfchen zu wenig Masse haben, um den Luftwiderstand zu überwinden, so wie ein Blättchen Papier in kürzerer Entfernung vom Ausgangspunkt niederfällt, als ein mit gleicher Kraft geworfener schwererer Gegenstand.

Von praktischer Bedeutung, nicht nur theoretisch interessant ist die Frage, *wo* die Mundtröpfchen gebildet werden, da offenbar von ihrer Beantwortung abhängen wird, welche Krankheiten für Mundtröpfcheninfektionen überhaupt in Betracht kommen.

Können durch den Luftstrom beim Sprechen von der Schleimhaut der Mund- und Rachenhöhle Tröpfchen abgelöst werden, d. h. hat der Luftstrom die von *Flügge* bestimmte zur Tröpfchenablösung von feuchten Flächen erforderliche Mindestgeschwindigkeit von 4 m oder nicht, überall oder nur an gewissen Stellen?

Eine Untersuchung über die Luftgeschwindigkeit beim Sprechen



schien daher notwendig und wurde mittels des vorzüglichen *Gutzmann-Wethlo*schen Atemvolummessers (s. Abb. 6) vorgenommen[1]). Der Apparat besteht, kurz skizziert, aus einer von feinstem Zephirleder (so dünn wie Goldschlägerhaut) hergestellten Harmonika, in die ein Gummirohr von ungefähr 1,5 cm Durchmesser mit maskenähnlichem Mundansatz hineinführt und die an ihrem oberen, festen Deckenteil einen Zeiger trägt, der bei jeder Bewegung an einer empirisch geeichten Skala die Menge der in den Blasebalg hineinströmenden Luft angibt. Ein Einatmungsventil verhindert die plötzliche Wiederansaugung der ausgeatmeten Luft. Am besten überträgt man die Zeigerbewegungen auf ein mit Zeitmarkierung versehenes Kymographion, bestimmt mit Hilfe des

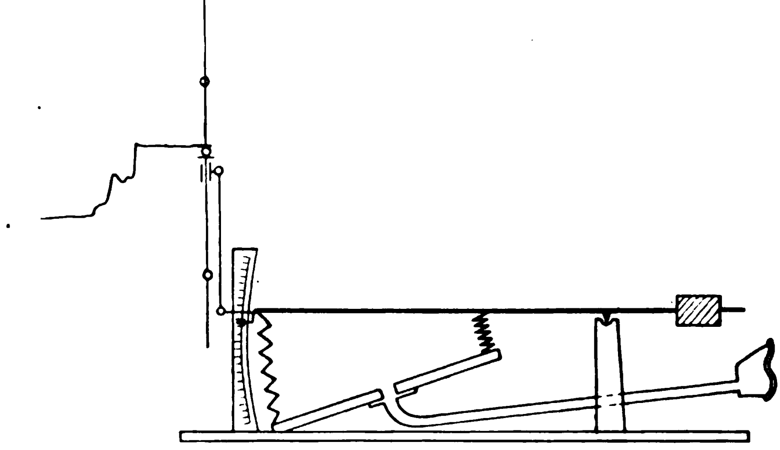


Abb. 6. Atemvolummesser nach *Gutzmann-Wethlo*. (Aus *Poirot* „Phonetik" in Tigerstedts Handbuch d. phys. Arbeitsmethode.)

Skalenmaßstabes das während des Versuchs ausgeatmete Luftvolum und berechnet alsdann die Luftgeschwindigkeit v nach der Formel:

$$v = \frac{\text{Volum}}{\text{Zeit}}$$

Mit dieser Apparatur wurde zur Bestimmung der Durchschnittsgeschwindigkeit der Exspirationsluft beim Sprechen folgender

Versuch Nr. 16

angestellt.

Einige Sätze mit mäßig lauter Stimme gesprochen.

Sprechdauer: 21 Sekunden.

Ausgeatmetes Luftvolum 3110 ccm.

Also: $v = \frac{3110}{21} = 148$ cm Durchschnittsgeschwindigkeit pro Sek.

---

[1]) Herrn Prof. *Gutzmann*, der mir in liebenswürdigster Weise seine eigenen Apparate zur Verfügung stellte und mich mit seiner reichen spezialistischen Erfahrung unterstützte, erlaube ich mir hier nochmals ergebensten Dank zu sagen.

Bei so geringer Geschwindigkeit könnten aber niemals Tröpfchen abgelöst werden. Offenbar verwischt die Durchschnittsberechnung gewisse Augenblicke *größerer* Geschwindigkeit, die ja, angesichts der unbestreitbaren Bildung von Sprechtröpfchen, gelegentlich zustande kommen *muß*.

Es war daher erforderlich, die Luftgeschwindigkeit bei der Vokal- und Konsonantensprache einzeln zu prüfen. Wir fanden bei *lautem* Sprechen

für die Vokale

a	eine	Geschwindigkeit	von	1,5 m	pro	Sek.
e	„	„	„	0,5 m	„	„
i	„	„	„	0,5 m	„	„
o	„	„	„	1,5 m	„	„
u	„	„	„	2,0 m	„	„

also durchweg recht geringe Geschwindigkeiten.

Bei der Konsonantensprache dagegen waren von vornherein höhere Geschwindigkeiten zu erwarten. Nach *Königer* werden „kleinste Teilchen der Flüssigkeit nur dann losgerissen, wenn enge Verschlüsse des Expirationsstromes unter Aufbietung einer gewissen Anstrengung durchbrochen werden, wie es z. B. bei der Konsonantenbildung geschieht. Die Ablösung der Tröpfchen findet demnach sicherlich allein an der Verschlußstelle statt". Diese Erklärung ist sicher richtig, soweit sie die sog. Verschluß- oder Momentanlaute (t, p, b, g, k) anbetrifft. Bei den Reibungskonsonanten wie s, f, w, besteht zwar kein vollkommener Verschluß der Mundhöhle vor der Aussprache, aber die vorhandene Öffnung des Sprachrohrs zwischen Lippen, Zungenspitze und Schneidezähne ist sehr klein. Die dahinterliegende, im Querschnitt weit größere Luftsäule wird unter einem bestimmten, bei harten (ss) und weichen (s) Konsonanten verschieden starken Druck ausgestoßen, so daß auch hier mit größeren Ausschlägen zu rechnen ist.

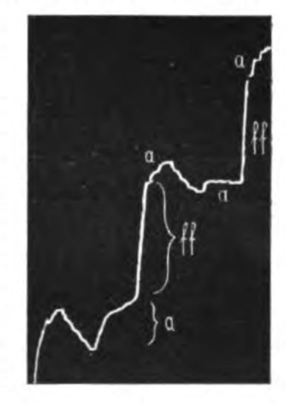


Abb. 7.

Wir prüften eine Reihe Konsonanten, und zwar so, daß der Konsonant in Verbindung mit dem Vokal a laut und deutlich gesprochen wurde (z. B. affa, atta usw.). S. Abb. 7, Kurve für affa.

Die steil aufsteigenden Kurvenstrecken entsprechen dem (harten) Konsonanten f, die mehr bogenförmigen dem Vokal a.

Die genaue Analyse der so gewonnenen Kurven ergab

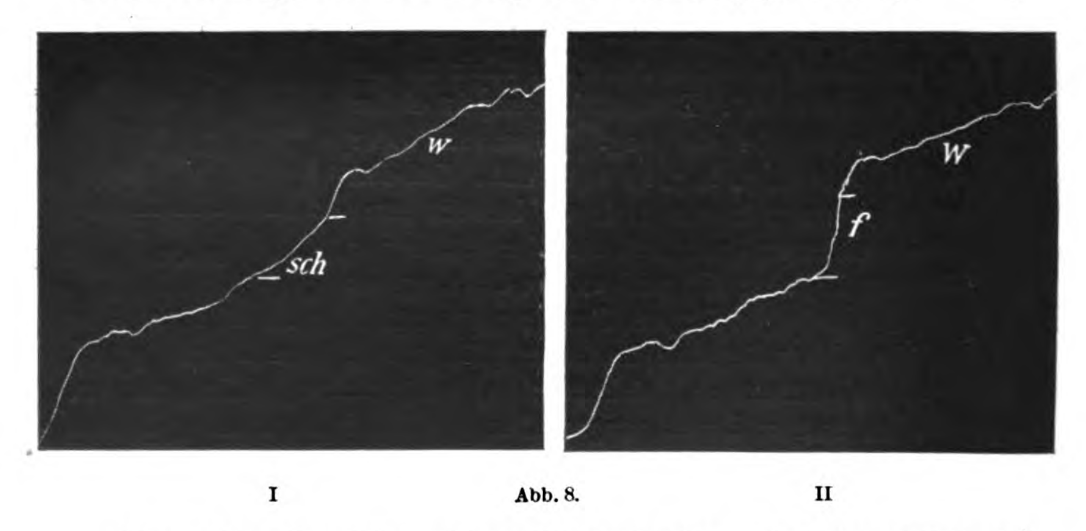
für die harten Konsonanten

p	eine	Geschwindigkeit	von	16	m	pro	Sek.
f	„	„	„	15	m	„	„
t	„	„	„	13	m	„	„
k	„	„	„	12	m	„	„

s	(scharf) eine	Geschwindigkeit	von	10 m	pro	Sek.
z	„	„	„	9 m	„	„
	für die weichen Konsonanten					
b	„	„	„	3 m	„	„
w	„	„	„	2,5 m	„	„
g	„	„	„	2,3 m	„	„
d	„	„	„	2 m	„	„

Diese Geschwindigkeiten herrschen selbstverständlich nur in ganz kurzen, Bruchteile von Sekunden betragenden, Zeiten ($^1/_5$, $^1/_{10}$, $^1/_{20}$ Sek.) und nur bei lauter Sprache. Aber selbst eine geringe, durch den Versuch bedingte und schwer zu vermeidende, Übertreibung in der Schärfe der Aussprache abgerechnet, bleibt die Geschwindigkeit bei den *harten* Konsonanten groß genug, um auch bei nur mäßig lauter Sprache eine erhebliche Tröpfchenbildung zu erklären. Die *weichen* Konsonanten dagegen mit ihrer die Vokalsprache kaum übersteigenden Geschwindigkeit werden wenig verstreuen, wenn auch mehr als die Vokale, weil sie, wie die harten Konsonanten, in den vordersten Partien der Mundhöhle gebildet werden.

Wie groß dieser Unterschied zwischen harten und weichen Konsonanten ist, zeigen die beiden folgenden Kurven (vgl. Abb. 8):



I Abb. 8. II

Gesprochen I: „Sehr schönes Wetter"; II: „sehr feines Wetter". Die beiden Kurven gleichen einander vollkommen, bis auf die Stellen, die den verschiedenen 2 Silben entsprechen. Das sch zeigt eine sanft ansteigende Linie, das f eine plötzlich in die Höhe schießende.

Auch der Unterschied zwischen Momentan- und Dauerlauten muß sich bei der Tröpfchenverstreuung bemerkbar machen. Die durch den Konsonanten p hervorgerufene Geschwindigkeit von 16 m/Sek. beispielsweise hatte nur eine Dauer von $^1/_{20}$ Sek., während das scharfgesprochene s seine Geschwindigkeit von 10 m $^1/_5$ Sek., also viermal solange, beibehielt. Im

letzten Fall wird also trotz geringerer Geschwindigkeit mehr verstreut werden können.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß **Tröpfchen nur in den vordersten Mundpartien gebildet werden.** Es besteht daher nur für solche Krankheiten Infektionsgefahr durch Mundtröpfchen, die entweder an vorderem Zahnfleisch oder Lippen lokalisiert sind, oder bei denen die Erreger von der Wangenschleimhaut oder hinteren Stellen der Mund- und Rachenhöhle abgelöst und dem Speichel in genügender Menge beigemengt werden. Dieser letzte Weg kann in Betracht kommen für Anginen, Erkrankungen des Rachens usw.

Demgemäß habe ich nach ihrer Lokalisation drei Typen von Erkrankungen untersucht, und zwar:

A. Von Affektionen der *vorderen* Mundpartien: Stomatitis ulcerosa und Alveolarpyorrhöe.

B. Von *Tonsillar*-Erkrankungen: Angina diphtherica.

C. Von *Rachen*erkrankungen (ohne Beteiligung der Tonsillen): einfache Rachenkatarrhe.

Versuche an Kranken.

A. Kranke mit Stomatitis ulcerosa und Alveolarpyorrhöe[1]).

Fall 1. 18jähriger Arbeiter (E. M.), seit einigen Wochen krank, besonders vorderes Oberkieferzahnfleisch. Einige Male behandelt. Keine Zahnlücken. Tröpfchenzahl auf drei Objektträgerreihen (s. Vers. 5—15) bei 10 Minuten langem Sprechen mit mäßig lauter Stimme

109 181 13

In den Tröpfchen Leukocyten, Spirochäten, fusiforme Stäbchen. Im Kontrollabstrich vom kranken Zahnfleisch dasselbe Bild.

Fall 2. 29jähriger Mann (R. St.), seit 4 Wochen krank. Vorderes Unterkieferzahnfleisch. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten; mäßig laut.

Ergebnis: 2 22 9 Tröpfchen.

In den Tröpfchen reichlich Leukocyten, Spirochäten, fusiforme Stäbchen. Im Kontrollabstrich das gleiche Bild.

Fall 3. 24jähriger Mann (H. B.), seit 8 Tagen krank. Vorderes Ober- und Unterkiefer-Zahnfleisch. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten, gewöhnliche Stimme.

Ergebnis: 1 6 1 Tröpfchen.

In den Tröpfchen Leukocyten, viel Spirochäten, keine fusiformen Bacillen. Im Kontrollabstrich genau dasselbe Bild.

Fall 4. 19jähriger Mann (P. P.), seit 4 Tagen krank. Vorderes Unter- und Oberkieferzahnfleisch. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten, mäßig laut.

Ergebnis: 17 23 7 Tröpfchen

In den Tröpfchen Leukocyten, Spirochäten, vereinzelte fusiforme Bacillen. Im Kontrollabstrich ebenso.

Fall 5. 46jähriger Mann (J.), seit mehreren Wochen krank. Vorderes Ober- und Unterkieferzahnfleisch. Dreimal behandelt. Anfangs angeblich starker Speichel-

[1]) Herrn Prof. *Williger*, Direktor am zahnärztlichen Institut der Universität, bin ich für seine freundliche Erlaubnis, an Kranken der Poliklinik meine Versuche anstellen zu dürfen, zu bestem Dank verpflichtet.

fluß. Zur Zeit des Versuchs nicht mehr. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten, mäßig laut.

Ergebnis: 3 36 61 Tröpfchen.

In den Tröpfchen viel Leukocyten, wenig Spirochäten, keine fusiformen Stäbchen. Im Kontrollabstrich Leukocyten, Spirochäten, wenig fusiforme Stäbchen.

Fall 6. 49jähriger Mann (St.), seit drei Wochen krank. Vorderes Ober- und Unterkieferzahnfleisch. Unbehandelt. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten. Laute Stimme.

Ergebnis: 75 463 190 Tröpfchen

In den Tröpfchen massenhaft Leukocyten und Spirochäten, wenig fusiforme Stäbchen. Im Kontrollabstrich genau dasselbe Bild.

Fall 7. 30jährige Frau (L.), seit 2 Wochen krank. Mehreremal behandelt. Vorderes Unterkieferzahnfleisch. Keine Zahnlücken. Sprechdauer 10 Minuten, mäßig laut.

Ergebnis: 34 73 10 Tröpfchen.

In den Tröpfchen Leukocyten, Spirochäten, fusiforme Stäbchen. Kontrollabstrich ebenso.

Fall 8. 23jähriger Mann (S.), seit mehreren Wochen an Alveolarpyorrhöe des vorderen Unterkiefers krank. Sehr viel behandelt. Rechter unterer Eckzahn fehlt. Sprechdauer 5 Minuten, mäßig laut.

Ergebnis: 30 102 65 Tröpfchen.

In den Tröpfchen Leukocyten, Spirochäten, fusiforme Stäbchen und *sehr zahlreiche Amöben* (Entamoeba buccalis). Im Kontrollabstrich ebenso.

Wir sehen, daß bei diesen Krankheiten der Inhalt der Mundtröpfchen in allen Fällen pathologisch verändert ist. In wieweit die Verspritzung solcher Tröpfchen Infektionsgefahr bedingt, müssen wir vorläufig angesichts der Unkenntnis der spezifischen Erreger dahingestellt lassen.

B. Kranke mit Angina diphtherica und Di-Bacillenträger.

Für die Diphtherieübertragung werden bis in die neueste Zeit [*Seligmann*[1])] neben der Kontaktinfektion gleichmäßig die beim Husten und Sprechen verstreuten Tröpfchen verantwortlich gemacht. Beim Sprechen, also in Mundtröpfchen, können Di-Bacillen nach unseren Untersuchungen nur verstreut werden, wenn sie wirklich in der Mundhöhle bzw. im Speichel zu finden sind. Nun existieren zwar in der umfangreichen Diphtherieliteratur zahlreiche Angaben über Diphtheriebacillen auf den Schleimhäuten der Mundhöhle[2]) mit besonderem Bezug auf Bacillenträger. Eine genauere Durchsicht zeigt aber, daß es sich dabei fast niemals um Untersuchungen der eigentlichen Mundhöhle, sondern der Tonsillen und der Rachenschleimhaut gehandelt hat. Nur *M. Neisser*[3]) hat einmal darauf hingewiesen, daß Diphtheriebacillen ,,auch wenn z. B.

[1]) *Seligmann*, Die Diphtherie in Berlin, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **92**, 171. 1921.

[2]) Ausführliche Literatur vgl. bei *Kober*, Die Verbreitung des Diphtheriebacillus auf der Mundschleimhaut gesunder Menschen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **31**, 433. 1899.

[3]) *M. Neisser*, Zur Differentialdiagnose des Diphtheriebacillus. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **24**, 443. 1897.



nur eine kleine Partie einer Mandel ergriffen schien, doch in der ganzen Mundhöhle selbst manchmal unter der Zunge" nachweisbar wären.

Eine Untersuchung über Infektiosität von Mundtröpfchen bei der Diphtherie wird sich daher auf die Prüfung des Diphtheriebacillengehaltes der Mundhöhle bei Kranken wie bei Bacillenträgern beschränken dürfen. Demgemäß habe ich bei Diphtherie-Kranken und -Bacillenträgern Mund- und Tonsillenabstriche gemacht, mit mehreren Personen überdies vor der Entnahme Sprechversuche angestellt. Die Mundabstriche wurden in der Weise vorgenommen, daß Zunge, Sublingualgegend, vorderes Zahnfleisch und Gaumen mit einem gewöhnlichen Diphtherieentnahmeapparat sehr gründlich abgewischt wurden. Die Untersuchung geschah in der üblichen Weise wie die der Rachenabstriche[1]).

Fall 1. 24jährige Frau (R.), Bacillenträgerin in der 5. Erkrankungswoche. *Tonsillenabstrich stark positiv, Mundabstrich negativ.*

Sprechversuche: 10 Minuten mit lauter Stimme.

a) Gegen 3 Reihen Objektträger. Ergebnis:

63 226 26 Tröpfchen.

Eine Anzahl Objektträger wurde gefärbt und durchmustert. In keinem Tröpfchen Di-Bacillen nachweisbar.

b) Gegen 4 Löffler-Platten, in 3 Reihen angeordnet, 2 in der Mitte, seitlich je eine. Ergebnis: Hunderte von Kolonien. Unter Auswahl der Di-verdächtigen wurden ungefähr 40% der Gesamtzahl untersucht: Keine Di-Bacillen.

Fall 2. 16jähriges Mädchen (Z.). Gesunde Bacillenträgerin, mehrere Geschwister erkrankt. Erste positive Rachenuntersuchung, anläßlich der Erkrankung einer Schwester, 6 Wochen vor dem Versuch.

Tonsillenabstrich stark positiv, Mundabstrich negativ.

Sprechversuche (10 Minuten, mäßig laut).

a) Objektträger:

9 10 3 Tröpfchen,

darin keine Diphtheriebacillen.

b) Platten: Sehr wenig Kolonien, keine Diphtheriebacillen.

Fall 3. 9jähriges Mädchen (C. S.), gesunde Bacillenträgerin, 2 Geschwister erkrankt.

Tonsillenabstrich sehr stark positiv, *fast Reinkultur. Mundabstrich negativ.*

Fall 4. 5jähriger Knabe (W. R.), 8 Tage nach der Erkrankung untersucht. *Tonsillenabstrich positiv, Mundabstrich negativ.* Sprechversuche (10 Minuten, mäßig laut) ergaben bei geringer Tröpfchenverstreuung völlig negatives Resultat.

Fall 5. 5jähriges Kind. Sehr schwere Rachendiphtherie mit starker Beteiligung des Bronchialbaumes. Tracheotomie.

Tonsillenabstrich stark positiv, Mundabstrich negativ.

Fall 6. 28jähriges Mädchen (H.), 2. Erkrankungstag, mittelschwere Diphtherie. Tags vorher mit Serum behandelt. Viel Auswurf.

Tonsillenabstrich stark positiv, Mundabstrich positiv. Die Kranke konnte nur 3 Minuten leise gegen eine in kurzer Entfernung vom Munde gehaltene

---

[1]) Für freundliche Zuweisung der Kranken bin ich den Herren Geh. Med.-Rat Prof. Dr. *His*, Direktor d. I. Med. Klinik, Dr. *Worms*, zur Zeit Leiter der Infekt.-Abteilung daselbst, und Prof. Dr. *Seligmann*, Abteilungs-Direktor am Städt. Haupt-Med.-Amt, zu größtem Danke verpflichtet.



Löffler-Platte sprechen. Ergebnis: Keine Tröpfchenverstreuung, keine Diphtheriebacillen.

Untersuchung 2 Tage später: Patientin fühlt sich wohler, wenig Auswurf. *Tonsillenabstrich stark positiv, Mundabstrich negativ.*

Fall 7. 25jährige Frau (H.), 2. Erkrankungstag, mittelschwere Diphtherie. *Rachenabstrich positiv, Mundabstrich negativ.* 4 Tage später: *Tonsillenabstrich* sehr stark positiv, *fast Reinkultur. Mundabstrich negativ* (ebenso auch in 3 weiteren Untersuchungen bis zum negativen Rachenbefund).

Fall 8. 14jähriges Mädchen (R.), 4. Erkrankungstag, schwere Diphtherie. *Rachenabstrich sehr stark positiv, Mundabstrich positiv* (sehr schwach).

2 Tage später: *Tonsillenabstrich positiv, Mundabstrich negativ*; ebenso in 4 späteren Untersuchungen bis zum negativen Rachenbefund.

Von 8 Diphtheriefällen mit stark positivem Tonsillenbefund hatten also nur 2 und auch diese nur vorübergehend Diphtheriebacillen in der Mundhöhle.

Wir verkennen keineswegs, daß unser Material für ein abschließendes Urteil viel zu gering ist. Bei der ungewöhnlich kleinen Zahl von Diphtherieerkrankungen in diesem Jahr hielt es aber leider schwer, ein größeres zu sammeln. Immerhin glauben wir sagen zu können, daß sich Diphtheriebacillen in der Mundhöhle von Bacillenträgern höchstwahrscheinlich selten finden, bei Kranken nur solange, als durch Abhusten der Beläge eine Mischung mit dem Speichel erfolgen kann. In diesem Stadium sind die Patienten aber durchaus nicht geneigt, viel und besonders laut zu sprechen, so daß die Tröpfchenverstreuung höchst gering ist. Danach wäre den Mundtröpfchen für die Epidemiologie der Diphtherie keine sehr erhebliche Bedeutung zuzumessen. Die Möglichkeit der gelegentlichen Übertragung auf diesem Wege kann allerdings nicht gänzlich geleugnet werden.

Außer diesen Diphtheriefällen habe ich einen 24jährigen Mann mit einer typischen Plaut-Vincent-Angina untersucht, bei dem der Mundausstrich absolut negativ war, während der Rachenabstrich das wohlbekannte Bakterienbild zeigte. Weiter wurden mehrere durch gewöhnliche Eitererreger hervorgerufene Anginen geprüft. Hier ließ die Bakterienflora des Mundes keine Übereinstimmung mit der der Tonsillen erkennen.

Diesen Ergebnissen nach ist wohl anzunehmen, daß bei Tonsillarerkrankungen spezifische Krankheitserreger nur selten in der Mundhöhle zu finden sein werden. Da jedoch das angeführte Krankenmaterial für die Entscheidung einer so allgemein-wichtigen Frage nicht ausreichte, suchte ich durch folgenden Prodigiosusversuch möglichste Klarheit zu erlangen: Einer Reihe von Personen wurde mit sterilem Tupfer eine konzentrierte Prodigiosusaufschwemmung auf die Tonsillen aufgetragen, dann in Abständen von $^1/_2$ und $1^1/_2$ Stunden Mund- und Tonsillenabstriche entnommen, außerdem Sprechversuche gemacht. Die Tupfer wurden wie üblich auf Agarplatten ausgestrichen und nach 48stündiger Exposition bei 22° ausgezählt; bei den Sprechversuchen ließ



ich eine Agarplatte in ungefähr 10 cm Entfernung vom Munde halten. Das Ergebnis war:

Tabelle II.

Lfd.-Nr.	Vers.-person	Entnahme nach	Tonsillen-abstrich	Mund-abstr.	Sprechplatte nach	
			Zahl der Prod.-Kolonien			
1.	S.	$^1/_2$ Std.	nicht zählbar	5	1 Std.	Viel Tröpfchen. Keine Prod.-Kolonien.*)
		$1^1/_2$ „	300	0		
2.	P.	$^1/_2$ „	sehr zahlreich	0		
		$1^1/_2$ „	95	0		
3.	H.	$^1/_2$ „	nicht zählbar	0	$1^1/_2$ „	Sehr viel Tröpfchen. *Eine* Prod.-Kolonie.†)
		$1^1/_2$ „	0**)	0		
4.	F.	$^1/_2$ „	sehr zahlreich	3		
		2 „	86	0		
5.	He.	$^1/_2$ „	nicht zählbar	150	1 „	Sehr wenig Tröpfch. Keine Prod.-Kolonien.††)
		$1^1/_2$ „	55	0		
6.	St.	$^1/_2$ „	nicht zählbar	140		
		$1^1/_2$ „	120	0		

Bemerkungen: *) 10 Min. laut gesprochen. **) Zwischen 1. u. 2. Entnahme gegessen. †) 5 Minuten sehr laut gesprochen. ††) 15 Minuten ziemlich leise gesprochen.

Trotzdem sich also die Prodigiosuskeime auf den Tonsillen über $1^1/_2$ Stunden nachweisen ließen, wurden sie im Munde entweder gar nicht oder nur im Anfang gefunden. In den Versuchen 5 und 6 berührte der Tupfer beim Herausnehmen die hintere Zungenpartie, daher die erhebliche Keimzahl im ersten Mundabstrich. Aber auch hier war nach $1^1/_2$ Stunden die Mundhöhle vollkommen gereinigt. Die Sprechversuche fielen — den Mundabstrichen entsprechend — negativ aus. Im Versuch 3 wurde bei ungewöhnlich lauter Sprache unter Hunderten von Tröpfchen eine Prodigiosuskolonie gezählt; sicher ein Zufallsprodukt, da zur Zeit des Sprechversuchs sogar der Tonsillenabstrich schon negativ war.

Ist also bei Tonsillarerkrankungen eine Abschwemmung von Krankheitserregern in die Mundhöhle sehr unwahrscheinlich, so wird das noch viel mehr für Erkrankungen der hinteren Rachenwand gelten. Gleichwohl habe ich einige Versuche in dieser Richtung angestellt.

C. Untersuchung verschiedener katarrhalischer Erkrankungen des Rachens, die immer mit einer gleichen Affektion der oberen Luftwege verbunden waren.

In Anbetracht der Unmöglichkeit, bei einfachen Katarrhen spezifische Erreger nachzuweisen, beschränkte ich mich vorerst auf Sprechversuche, die in derselben Art wie bei Gesunden ausgeführt wurden. Nach einigen Versuchen ergab sich ein deutlicher Unterschied in der

Tröpfchenzahl bei trockenen und feuchten Katarrhen: Die trockenen, stark reizenden Katarrhe hatten nur eine geringe Verstreuungszahl. Bei den vier darüber angestellten Versuchen erhoben sich die Ziffern nicht über die bei Gesunden gefundenen.

Fall 1. 13 jähriger Knabe (A. B.); seit Monaten hartnäckiger Katarrh, stark quälender Hustenreiz. Geringer Rachenbelag. Während des Versuchs ($^1/_4$ Std. mäßig laut gesprochen) mehrere Hustenstöße, die aber bei den eingehaltenen Vorsichtsmaßregeln: Abwenden des Gesichts, Vorhalten eines Taschentuches, das Ergebnis nicht stören konnten. Auf den 3 Reihen Objektträgern

30 210 65 Tröpfchen.

Kontrolluntersuchung im gesunden Zustand aus äußeren Gründen nicht möglich.

Fall 2. 41 jährige Frau (E. T.); seit 8 Tagen bestehender Katarrh. Heftiger Reizhusten, geringer Auswurf, mäßig starke Rachenbeläge. Sprechdauer $^1/_4$ Stunde, mäßig laut. Ergebnis:

31 404 133 Tröpfchen.

Der Katarrh war sehr hartnäckig; konnte nach einem Monat nochmals untersucht werden. Noch immer Hustenreiz, kein Auswurf. Erfolg fast absolut dem ersten gleich.

Kontrolluntersuchung im gesunden Zustand:

60 455 35 Tröpfchen.

Fall 3. 36 jährige Frau (H. K.), seit mehreren Tagen heftiger Katarrh, starker Hustenreiz, geringer Auswurf. Rachenschleimhaut mit schleimig eitrigen Belägen. Sprechdauer $^1/_4$ Stunde, ziemlich laut. Ergebnis:

48 82 10 Tröpfchen.

Kontrolle im gesunden Zustand.

35 80 15 Tröpfchen.

Fall 4. 48 jähriger Mann (B. H.), seit kurzem bestehender Katarrh. Quälender Hustenreiz ohne Auswurf. Geringer Rachenbelag. Sprechdauer 10 Minuten, mäßig laut. Ergebnis:

8 30 6 Tröpfchen.

Kontrolle im gesunden Zustand:

7 25 8 Tröpfchen.

Ein ganz anderes Bild boten die leichten *feuchten* Katarrhe, die ohne starke Beschwerden, mit geringem, nicht quälenden Hustenreiz, höchstens leichter Heiserkeit einhergingen. Hierfür 3 Beispiele:

Fall 5. Der schon im gesunden Zustande untersuchte Knabe von Fall 6 (K. T.). Leichter Katarrh seit einigen Tagen. Selten Husten, geringer Rachenbelag. Sprechdauer $^1/_4$ Stunde sehr laut. (Trotzdem keine Hustenstöße während des Versuchs.) Ergebnis:

665 1503 498 Tröpfchen.

Kontrolle im gesunden Zustand:

177 725 74 Tröpfchen.

Fall 6. 10 jähriger Knabe (R. H.), Klinisches Bild, Versuchsdauer wie Fall 1, laute Sprache. Ergebnis:

769 1300 800 Tröpfchen.

Kontrolle im gesunden Zustand:

61 192 217 Tröpfchen.

Fall 7. 12 jähriger Knabe (P. K.), seit Monaten leichter Katarrh. Tagsüber nicht häufige, niemals quälende Hustenanfälle. Geringe Rachenbeläge. Sprechdauer $^1/_4$ Stunde laut. (Nur einmal gehustet.) Ergebnis:



330	1345	767 Tröpfchen.
Kontrolle im gesunden Zustand:		
92	340	186 Tröpfchen.

Bemerkt sei noch, daß bei den Kontrollen streng darauf geachtet wurde, daß die Versuchsbedingungen, nach Stärke der Sprache, Dauer und Lesestoff möglichst den Untersuchungen im Krankheitsfall entsprachen.

Es scheint mir hieraus die Folgerung berechtigt, daß bei den feuchten Katarrhen eine abnorm gesteigerte Ausstreuung statthaben kann. Damit ist aber noch nichts über die Infektionsgefahr durch solche Tröpfchen ausgesagt, da es weniger auf ihre *Zahl* als auf ihren *Inhalt* ankommt. Bei der Unklarheit der parasitären Ätiologie einfacher Katarrhe war die Infektiosität der Mundtröpfchen durch Nachweis bestimmter Erreger nicht festzustellen. Ich half mir daher so, daß ich den zelligen Inhalt der Mundtröpfchen untersuchte, von der Voraussetzung ausgehend, daß Krankheitserreger, die auf irgend eine Weise, vielleicht durch Sputum oder Bronchialtröpfchen in die Mundhöhle gelangt sind, hauptsächlich an Leukocyten und zellige Elemente der entzündeten Schleimhäute gebunden sein müßten; in Analogie zur Lungentuberkulose, bei der sich, wenn auch sehr selten, in Mundtröpfchen Leukocyten und Tuberkelbacillen finden. Es wurden also eine Anzahl Objektträger von den Versuchen an katarrhalisch Erkrankten und zur Kontrolle von Gesunden gefärbt, jedes einzelne Tröpfchen dann auf seinen Gehalt an Zellbestandteilen geprüft. Auf diese Weise war zu hoffen, einen wenigstens vergleichsweise brauchbaren Maßstab für die Infektionsmöglichkeit zu gewinnen. Jedoch fanden sich entweder gar keine oder nur ganz geringfügige Unterschiede in Zahl und Art der Zellelemente und Bakterien; besonders waren Leukocyten fast nie zu finden. Ich möchte daher die vermehrte Ausstreuung bei den feuchten Katarrhen allein auf eine gleichzeitig vorhandene gesteigerte Flüssigkeitssekretion innerhalb der Mundhöhle zurückführen, die Frage nach der Infektionsgefahr solcher Tröpfchen aber vor der Hand noch offen lassen.

Schreiversuche an Säuglingen.

Was für die katarrhalischen Erkrankungen der Erwachsenen gesagt wurde, gilt natürlich ebenso für ähnliche Krankheiten der Säuglinge, wie z. B. die Bronchitiden. Hier werden oft auch ohne nähere Präzisierung die beim Husten und *Schreien* verspritzten Tröpfchen gleichermaßen als infektiös angesehen. Das Schreien der Säuglinge entspricht dem etwas gepreßt gesprochenen Vokal ä. Bei Vokalsprache können aber, wie wir gesehen haben, überhaupt kaum Mundtröpfchen verschleudert werden. Einige Versuche, die ich an einer hiesigen Säuglingsfürsorgestelle[1])

[1]) Dem Leiter der Säuglingsfürsorgestelle, Herrn Geh. Sanitätsrat Prof. Dr. *Cassel*, bin ich zu bestem Danke verpflichtet.



an acht gesunden Säuglingen vornahm, entsprachen vollkommen den Erwartungen. Auf dem Arm der Mutter sitzend, wurden die Säuglinge zum kräftigen Schreien gebracht und ihnen im Abstand von 10—15 cm ein Rahmen mit 2 × 5 Objektträgern vorgehalten. Tröpfchenausbeute in einzelnen Versuchen 8—9, in allen anderen nur 2—3 auf dem ganzen Objektträgerfeld. Schreiversuche an kranken Säuglingen konnte ich nicht machen. —

Vor Zusammenfassung meiner hiermit abgeschlossenen Versuche sei kurz auf die praktisch wichtige Frage des Gebrauchs von Schutzmasken gegen Mundtröpfchenverstreuung eingegangen. Gazemasken wurden zuerst von *Mikulicz*[1]) und *Hübener* zur Verbesserung der aseptischen Operationsmethotik angegeben. Die Notwendigkeit eines solchen Schutzmittels ist aber bis heute noch nicht von allen Seiten anerkannt. Die Schwierigkeit eines einwandfreien Urteils liegt darin, daß man über das Vorkommen pathogener Bakterien in der Mundhöhle gesunder Menschen zu wenig weiß. Da aber alle Sprechversuche gezeigt haben, daß bei ruhiger, nicht lauter Sprache selbst bei längerer Dauer außerordentlich wenig Tröpfchen verstreut werden, so wird ein Chirurg, der bei der Operation möglichst wenig und möglichst leise spricht, einer Mundmaske nicht bedürfen, die abgesehen von ihrer Lästigkeit immer zu lauterem Sprechen zwingt, und so den relativen Schutz wieder teilweise in Frage stellt. Doch wird es sich empfehlen, daß der Chirurg namentlich bei Erkrankungen der Mundschleimhaut, des Zahnfleisches oder der Zähne Vorsichtsmaßregeln ergreift. Besonders aber wird die chirurgische Operationsmaske bei *Erkrankungen der Luftwege* als Schutz gegen die Verspritzung von *Bronchial*tröpfchen immer von größtem Wert sein.

Zu begrüßen sind auch die verschiedentlichen Versuche[2]), auf Säuglingsstationen katarrhalisch kranke Pflegerinnen Mundmasken tragen zu lassen. Auch hier wird es sich im wesentlichen darum handeln, die Infektion durch *Husten*tröpfchen zu verhüten; erst in zweiter Linie kommt ein Schutz gegen Mundtröpfchen in Betracht.

Zusammenfassung.

1. Von gesunden Menschen werden beim Sprechen mit Mundepithelien und -bakterien beladene Tröpfchen verstreut, die eine sehr geringe Flugfähigkeit haben, in wesentlicher Anzahl höchstens 30 cm weit in gerader Richtung, ein wenig seitlich nur noch 20 cm weit zu finden sind.

2. Die Verstreuung kann sehr erheblich sein. Ihre Größe hängt ab:

---

[1]) *Mikulicz*, Das Operieren in sterilisierten Zwirnhandschuhen und mit Mundbinde. Zentralbl. f. Chirurgie. **24**, 713. 1897.

[2]) *Friedberg*, Infektionsverhütung und der Hospitalismus der Säuglinge. Dtsch. med Wochenschr. 1921, S. 1025.

a) von der Stärke der Sprache: bei gewöhnlicher, ziemlich leiser Sprache wird nur wenig verstreut, bei lauter oft sehr viel;

b) vom Speichelgehalt der Mundhöhle;

c) von der ununterbrochenen Sprechdauer;

d) von etwa vorhandenen Anomalien der Mund-, Zahn- oder Sprachbildung.

3. Mundtröpfchen werden nur in den vordersten Mundpartien, und zwar bei der *Konsonanten*sprache gebildet; *Vokale* spielen keine Rolle.

4. Infektiöse Mundtröpfchen können daher bei Zahnfleischerkrankungen (Stomatitis ulcerosa u. a.) verschleudert werden.

5. Eine Abschwemmung keimhaltigen Materials von den Tonsillen oder noch tieferen Partien des Rachens in die Mundhöhle hinein ist nach Versuchen mit Prodigiosus und nach Beobachtungen an Diphtheriekranken und Di-Bacillenträgern unwahrscheinlich.

6. Bei Erkrankungen mit tonsillarer Lokalisation, besonders der Diphtherie, wird daher eine Infektion durch Mundtröpfchen nicht häufig sein.

7. Von den einfachen katarrhalischen Erkrankungen der oberen Luftwege neigen die *feuchten* Katarrhe zu erheblich gesteigerter Ausstreuung von Mundtröpfchen, die trockenen nicht. Obschon diese Tröpfchen weder Leukocyten noch abgestoßene Zellbestandteile der entzündeten Schleimhäute enthalten, ist doch mangels der Unkenntnis der spezifischen Erreger über die Größe der durch sie bedingten Infektionsgefahr nichts auszusagen.

8. Bei der Übertragung von Lungenerkrankungen der Säuglinge spielen die spärlichen, beim *Schreien* verschleuderten Mundtröpfchen höchst wahrscheinlich nur eine sehr geringe Rolle.

9. Besonders bedeutsam könnte die Ausstreuung von Mundtröpfchen für die Übertragung der exanthematischen Krankheiten unbekannter Ätiologie sein, bei denen sich während des Prodromalstadiums nicht selten in der Mundhöhle Veränderungen finden (*Koplik*sche Flecke, Himbeerzunge), und bei denen mit einer sehr großen Verdünnungsfähigkeit des Virus gerechnet werden kann, z. B. bei Pocken, Scharlach, Masern.



(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch".)

Zur Immunisierung gegen Mäusetyphus durch Fütterung.

Von
Dr. Otto Ornstein,
ehem. Assistent am Institut.

Frühere Beobachtungen.

Die ausgedehnten Untersuchungen von *Kutscher* und *Meinicke* brachten zum ersten Male den einwandfreien Nachweis der nahen immunisatorischen Beziehungen zwischen den verschiedenen Vertretern der Paratyphusgruppe untereinander, welcher sich auf vergleichende Schutzversuche, nicht nur nach parenteraler Vorbehandlung, sondern auch auf Versuchsreihen zur Fütterungsimmunität stützt. Ihre Erfahrungen lassen sich kurz dahin zusammenfassen: wechselseitige aktive Immunität gegen Paratyphus-B- und Mäusetyphus-Bacillen läßt sich durch subcutane Injektion abgetöteter und lebender Erreger bei Meerschweinchen erzielen, ebenso durch einmalige Fütterung mit lebenden Kulturen. Dieser Schutz ist spezifisch und mit abgetöteten Kulturen durch Fütterung nicht zu erzielen.

Im gleichen Jahre erschienen *Löfflers Versuche* zur oralen Immunisierung von Mäusen gegen Mäusetyphus, mit folgendem Ergebnis: durch häufige Fütterung mit großen Mengen abgetöteter Bacillen während etwa 4 Wochen, wobei die Hälfte von acht Tieren durch Giftwirkung einging, wurde bei zwei Tieren ein Schutz erzielt gegen die Infektion mit lebenden Bacillen per os. Dieser Schutz war aber nur von kurzer Dauer (wenige Wochen), da die beiden Tiere einer zweiten Fütterung 18 Tage darauf erlagen, wie die Kontrollen. Subcutane Vorbehandlung schützte überhaupt nicht gegen Fütterungsinfektion. — Da bei dem zweifellos vorliegenden relativen Schutze Antikörper nicht nachgewiesen wurden, so glaubte *Löffler* eine „neue Immunität" annehmen zu müssen, und vermutete „celluläre Einwirkungen, eine Organimmunität des mutmaßlichen Atrium morbi". *Löffler* setzte auf den weiteren Ausbau dieser Immunitätsstudien große Hoffnungen für die weitere Erforschung des Typhus, der Cholera und der Ruhr.

L. H. Marks teilt in seinen Fütterungsstudien an Mäusen mit einem Bacillus der Paratyphusgruppe (Schweinepestbacillus) diesen Standpunkt



Löfflers nicht; nach ihm gelingt der Versuch aktiver Immunisierung durch Fütterung bei Mäusen auf keinem Wege. Trotz Vorbehandlung durch subcutane und intraperitoneale Einverleibung von toten Kulturen in den „verschiedensten Intervallen", durch Fütterung mit toten Kulturen „in größter Menge und durch lange Zeit", bei „Abtötung nach den verschiedensten und schonendsten Verfahren", durch Fütterung mit stark verdünnten lebenden Kulturen wird keine Immunität erzielt gegen Fütterung mit lebenden Bacillen oder deren intrastomachale oder rectale Einverleibung. Bei intrastomachaler Einverleibung überlebte ein Teil der Mäuse allerdings drei Wochen und länger, erlag aber einer stärkeren Fütterung. Da nun der Bacillennachweis bei infizierten Tieren zuerst im Blute (3. bis 4. Tag durch Gallenanreicherung!), dann erst im Kote (5. bis 6. Tag auf Endoplatte!) gelang, möchte *Marks* „die primäre Vermehrung im Darm nicht als ausschlaggebend für die Infektion ansehen"; auch schließt er aus seinen oralen, stomachalen und rectalen Infektionsversuchen, daß die „Eintrittspforte nicht nur in einem Abschnitte des Darmes gesucht werden könne", „von einer Fütterungsimmunität daher nicht viel zu erwarten, eine immunisatorisch erzielte lokale Darmimmunität daher wahrscheinlich ohne Nutzen", im übrigen trotz beobachteter Inkubation von Monaten „auch von ihm nicht experimentell erzielt" worden sei.

Wolf und *Yoschida* haben, in Erwägung der durch die Arbeiten von *Trommsdorff*, *Bonhoff*, *Schottmüller*, *Smidt* und insbesondere *Kutscher* und *Meinicke*, *Böhme* u. a. nachgewiesenen engen Zusammengehörigkeit von Paratyphus-B- und Mäusetyphus-Bacillen, Mäuse mit lebenden Paratyphus-B-Bacillen täglich gefüttert. Sie kommen zu dem Ergebnis, daß Fütterung mit lebenden Paratyphus-B-Bacillen oder abgetöteten Mäusetyphus-Bacillen gegen Fütterung und subcutane Infektion mit lebenden Mäusetyphusbacillen schützt, subcutane Vorbehandlung mit lebenden Paratyphus-B-Bacillen (3 × in 10tägigem Abstande) nur gegen subcutane Infektion, nicht gegen Fütterung.

Wolf und *Yoshida* hatten durch Fütterung mit lebenden Paratyphusbacillen keine Verluste (s. auch *Brückner*), wohl aber mit abgetöteten Mäusetyphusbacillen durch starke Giftwirkung (s. auch *Löffler*); auf dem ersten Wege sahen sie schon nach 5 Tagen Immunität eintreten. *Wolf* hält allgemeine Immunität für vorliegend, zumal er im Serum der immunen Mäuse Schutzstoffe nachweisen konnte (Bactericidie im passiven Schutzversuch am Meerschweinchen).

Durch Fütterung mit lebenden Paratyphus-B-Bacillen hat *Brückner* auch gegen i. p. Infektion mit dem gleichen Stamme Schutz erzielt, und lehnt daher Organimmunität ab.

Shiga hat Meerschweinchen mit abgetöteten Paratyphus-B-Bacillen gefüttert und sie gegen Einspritzung von virulenter Kultur in den



Dünndarm gefestigt, an deren Folgen Kontrollen in 1—2 Tagen starben; er hält den erzielten Schutz für lokale histogene Immunisierung.

Überblickt man diese Ergebnisse in ihrer Gesamtheit, so läßt sich sagen, daß Immunität gegen Paratyphusstämme durch Fütterung mit lebenden Erregern bei Meerschweinchen und Mäusen erzielt wird, wenn man genügend Rücksicht auf die außerordentlich verschiedene Virulenz der dieser Gruppe zugehörigen Stämme nimmt. Die Mäusetyphusstämme sind für Meerschweinchen und insbesondere Mäuse bedeutend pathogener als die gewöhnlichen Paratyphusstämme, während die Schweinepestbacillen, unter Umständen, die ersteren an Virulenz noch übertreffen können (bei Kaninchen nach *Wassermann*, *Ostertag* und *Citron*, Zeitschr. f. Hygiene 52 u. 53. 1906). Experimentell bevorzugen daher, nach *Kutschers* und *Meinickes* Erfahrungen, *Wolf* und *Yoshida*, auch zur Vorbehandlung gegen den virulenten Stamm (Mäusetyphus), den weniger virulenten (Paratyphus-B). Die Krankheit wird in abgeschwächter Form auch von Meerschweinchen überstanden, wie die vergleichenden Versuche *Kutschers* und *Meinickes* zeigen. Die Mäusetyphustiere zeigen starken Ausfall durch Tod, die Paratyphustiere keine merkliche Erkrankung. Auch anatomisch sind die Veränderungen an den lymphatischen Organen des Darms und Mesenteriums bei Mäusetyphus-Fütterung ausgesprochener als bei Paratyphus-Fütterung.

Die Fütterung mit abgetötetem Virus führt nach *Löfflers* und *Wolf* und *Yoshidas* Versuchen zu erheblichem Ausfall von Mäusen durch Vergiftung (*Marks* macht darüber keine Angaben). Wie aber die wenigen positiven Schutzversuche von *Löffler* und *Wolf* nahelegen, wird auch durch Fütterung mit abgetöteten Bacillen ein Schutz erzielt gegen Fütterung mit lebenden. Die so vorbehandelten Mäuse erkranken, wie *Wolf* ausdrücklich mitteilt, sichtlich nach der Prüfungsfütterung, überstehen aber die Erkrankung und zum Teil auch wiederholte (3) Fütterungen mit virulenten Mäusetyphusbacillen.

Daß *Marks* nur gelegentlich Verzögerung der tödlichen Infektion „bei seiner intrastomachalen Methode", niemals Immunität durch Fütterung mit abgetöteten Bacillen sah, liegt wahrscheinlich an der kurzen Dauer der Vorbehandlung mit abgetötetem Gifte (bis 13 Tage nach seinen Protokollen), vielleicht auch an der Virulenz des Stammes (B. suipestifer).

Serologisch konnten bei Mäusen weder *Löffler* noch *Wolf* und *Yoshida* Agglutinine nachweisen, letztere geben aber positives *Pfeiffer*sches Phänomen an und Überleben eines Teiles der passiv geprüften Meerschweinchen.

Die subcutane Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterien ergab, neben Verlusten durch Giftwirkung bei Mäusen, weder bei *Löffler*,



noch bei *Marks* (auch i. p.) oder *Wolf* und *Yoshida* einen wesentlichen Schutz gegen die tödliche Fütterungsinfektion der Maus; dagegen gibt *Wolf* an, daß subcutan mit lebenden Paratyphusbacillen vorbehandelte Mäuse subcutane Impfung mit Mäusetyphusbacillen überleben, wie mit Paratyphus-B- oder abgetöteten Mäusetyphusbacillen gefütterte Tiere.

Versuche an Mäusen.

Über den *Verlauf der künstlichen Fütterungsinfektion* der Maus mit Mäusetyphusbacillen bzw. Verwandten aus der Paratyphusgruppe (Schweinepestbacillus-Marks) finden sich in der Literatur ziemlich gleichmäßige Angaben.

In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle gehen die Tiere bei Fütterung zwischen dem 4. und 10. Tage ein.

Von 40 Tieren, welche bei den folgenden Versuchen in 18 ununterbrochenen Passagen das Virus gleichmäßig erhalten sollten, starben zwischen dem 4. und 10. Tage 38, am 1. Tage und am 14. Tage je ein Tier. Jede Maus war isoliert und mit je einer Öse 20stündiger Passagekultur gefüttert worden. Die Kulturmasse wurde in 1,0 Bouillon aufgeschwemmt und auf einen Schwarzbrotwürfel von etwa 3 ccm aufgeträufelt. Vor der Fütterung wurden die Behälter gereinigt, mit frischen Sägespänen ausgestreut und bis zum anderen Morgen kein anderes Futter gegeben. Die Brotstücke waren dann, ohne eingeschaltete Hungerperiode, immer vollständig oder bis auf kleine Reste aufgefressen. Die verhältnismäßig große Dosis wurde gewählt, um Zufälligkeiten nach Möglichkeit auszuschalten.

Zuweilen schon 2, gewöhnlich 3—4 Tage nach der Fütterung zeigen die Tiere Krankheitserscheinungen. Sie bewegen sich weniger, sitzen mit gesträubten Haaren da, fressen mühsamer, die Augen beginnen zu verkleben, werden bei Störungen lichtscheu geöffnet. Beim Laufen nehmen sie eine gebuckelte, contracte Haltung an. Die Bewegung erfolgt in kleinen Schritten, später sprunghaft, fast ohne Haltungsänderung. Zuletzt sitzen die Tiere gesträubt da wie ein Igel, der sich zusammenrollen will, und atmen kurz, schnell und angestrengt. Dieser Zustand kann, von mechanischen, meist leeren Freßbewegungen unterbrochen, noch ein paar Tage bis zum Tode andauern.

In den letzten Tagen wird weniger geformter, schmierig klebriger bis dünnflüssiger, grüngelblicher Kot entleert. Kein Tier überlebt.

Die gefallenen Tiere zeigen charakteristischen Befund: Degeneration der parenchymatösen Organe, zuweilen Nekrosen in der Leber, dunkelbraunrote septische Milz mit follikulärer Zeichnung; geschwollene Mesenterialdrüsen, starke Injektion des Gekröses und der Därme, besonders aber der geschwollenen solitären und aggregierten Follikel; in den oberen Abschnitten des Dünndarmes erscheinen häufig Hämor-



rhagien und meistens starke Galleansammlung. An den Lungen sind häufig kleine broncho-pneumonische Herde und gelegentlich Infarkte sichtbar.

Die Darmschleimhaut zeigt besonders an den aggregierten Follikeln des Dünndarmes und Blinddarmes markige Schwellung und nicht allzu selten, bei nicht zu frühem Tode, deutliche Nekrosen und beginnende Geschwürsbildung. Perforation, welche *Marks* erwähnt, wurde nicht beobachtet. Die Nekrosen zeigen auf Schnitten zahlreiche Bakterienhaufen und -nester.

Die bakteriologische Untersuchung der Mäuse ließ, bei meistens reichlichem, reinem Wachstum aus der Blutbahn (Herz) und Milz, sowie insbesondere den oberen Darmabschnitten (Gallestrom), ein Zurücktreten des Keimreichtums nur gelegentlich in Blut und Darm feststellen, übrigens ohne Rücksicht auf die Dauer der Erkrankung; während in den unteren Darmabschnitten sich Coli und gelegentlich andere Keime zuweilen stark in den Vordergrund drängten.

Immunisierung von Mäusen gegen Fütterung mit Mäusetyphusbacillen.

Da aus *Löfflers*, *Wolfs* und insbesondere *Marks*' Untersuchungen übereinstimmend hervorgeht, daß durch parenterale Vorbehandlung mit abgetöteten Bacillen (bzw. mit lebenden Paratyphusbacillen, *Wolf*) ein Schutz gegen Fütterung mit lebenden Mäusetyphusbacillen nicht zu erzielen ist, die Möglichkeit eines Schutzes durch Fütterungsvorbehandlung mit abgetöteter Kultur aber sehr widersprechenden Angaben begegnet, schien es von Interesse, diese letztere Frage nochmals zu prüfen.

Von einer Vorbehandlung mit lebenden Erregern der gleichen Gruppe, aber geringerer Virulenz, wurde bei diesem Versuche abgesehen, da auf diesem Wege nach den oben erwähnten Autoren ein verhältnismäßig guter Schutz zu erwarten war[1]).

Bei der Fütterung mit größeren Mengen abgetöteter Kultur von Mäusetyphusbacillen waren starke Giftwirkungen, zumal möglichst schonend abgetötete Bacillen verwendet wurden, vorauszusehen.

Zur Vorbehandlung wurde überall Bouillonkultur verwendet, welche, 5 Tage lang bewachsen, durch Chloroform sterilisiert worden war. Nach Verdampfen des Chloroforms bei Zimmertemperatur und wiederholter Sterilitätsprüfung wurde die eine Hälfte noch 1 Stunde lang bei 56° (Wasserbad) erhitzt; dann wurden beide Antigene im Eisschranke gehalten.

[1]) Versuche zur Immunisierung von Meerschweinchen per os mit lebenden Cholera-, Typhus- und Ruhrkulturen haben gezeigt, daß es bei mehrmaliger Fütterung mit großen Mengen von Kultur im Laufe von 4—6 Wochen gelingt, echte Immunität zu erzielen. Serologisch zeigen die aktiv geschützen Tiere wenig oder gar keine Agglutinin- und Lysinbildung, hingegen immer beträchtliche Tropinwirkung. (Vgl. die nachfolgende Arbeit über Choleraimmunität.)



Von dem nicht erhitzten Gifte erhielten, bei viermaliger Vorbehandlung in 8tägigen Zwischenräumen (Tab. I.):

2 mal 10 Mäuse im ganzen je 4,0 ccm auf Brot verfüttert;
1 mal 5 Mäuse in der gleichen Zeit subcutan im ganzen je 0,31 ccm.

Von der auf 56° erhitzte Bouillon wie oben:

1 mal 10 Mäuse verfüttert;
1 mal 5 Mäuse subcutan.

Die Gifte waren, wie in der letzten Spalte zur „Vorbehandlung" ersichtlich, in den verwendeten Dosen noch recht wirksam; auch das erhitzte, wenn diesem auch weniger Tiere und später erlagen, als dem nativen Gifte. Auch die kleinen subcutanen Dosen erwiesen sich noch bei einigen Tieren tödlich.

Im ganzen starben infolge der Vorbehandlung von 30 gefütterten Tieren 12, von 10 subcutan vorbehandelten 4. Die Sterblichkeit ist also etwa die gleiche. Dabei sind die per os gegebenen Dosen 13 mal größer als die subcutan gegebenen; auf ersterem Wege kann man also den Mäusen sehr viel größere Mengen von Antigen zuführen; wieviel davon resorbiert wird, wissen wir freilich nicht.

Von 12 per os vorbehandelten Tieren überlebten nur 2 Tiere die eine Woche später mit virulentem Passagestamm gesetzte Fütterungsinfektion; von 6 subcutan vorbehandelten keines; von 6 per os vorbehandelten, 5 Wochen später durch Fütterung infizierten Tieren noch 1.

Wahrscheinlich ist dieses Ergebnis, bei vorsichtigerer Dosierung und längerer Vorbehandlung zu verbessern.

Die Tiere, welche sich als geschützt erweisen, erkranken gleichwohl wie das schon von *Wolf* hervorgehoben wird. Danach aber überleben diese Tiere eine ganze Anzahl von Fütterungen (bis zu fünf in über 5 Monaten). Dieser Schutz ist auch serologisch nachweisbar, wie vergleichende Versuche über die Einwirkung frischen Citratblutes vorbehandelter und normaler Mäuse auf Mäusetyphusbacillen zeigten.

Die Versuchsanordnung war folgende: Mit bis zu einem Eichstrich mit 1 proz. Kaliumcitratlösung (in physiologischer Kochsalzlösung) gefüllten Capillaren wurde bis zum Eichstrich Blut aus der gestutzten Schwanzspitze einer Maus angesogen; danach beides sorgfältig gemischt; endlich eine gleiche Menge Bacillenemulsion (zwei Ösen in 1,0 Bouillon aufgeschwemmt) dazugefügt; nach 30—45 Minuten Bebrütung bei 37° wurden Ausstriche angefertigt und gefärbt.

Das Ergebnis war in beiden Versuchsreihen das gleiche: In dem Blute der immunen Mäuse, welche damals je eine, zwei bis drei Fütterungen mit lebenden Bacillen überstanden hatten, ist nach der Bebrütung vollständige Agglutination der Bacillen und starke Phagocytose mit intracellulärer Granulabildung eingetreten; nicht dagegen bei den

Normaltieren, welche schwache, frustrane Phagocytose zeigten, unter Zerfall der weißen Blutzellen und Austritt der Bacillen.

Von besonderem Interesse ist es, daß gut immunisierte Mäuse eine deutliche Immunität auf ihre Jungen vererben können. Ende Juli warf eines der mit Chloroformgift vorbehandelten Tiere (Tabelle I, Gruppe Ia) 6 Junge, Anfang August das mit 56° Gift vorbehandelte (Gruppe II) 3 Junge; diese Jungen wurden später von Herrn Dr. *Lange* mit den alten Tieren einer mehrfachen Fütterung mit dem fortgeführten virulenten Passagestamm unterworfen.

Während die alten Tiere die Fütterung vom 1. X. 1921 ohne Erkrankung überlebten, starben von den erwähnten 6 Jungen zwei nach 13 und 20 Tagen, während 4 überlebten, von den 3 Jungen 2 nach 11 bzw. 15 Tagen (das erste dieser beiden ohne Bacillenbefund), während die Kontrollen ohne Verzögerung nach 5—7 Tagen eingingen.

Einer zweiten Fütterung am 29. XI. fiel noch eins der 6 Jungen nach 9 Tagen zum Opfer, während die anderen überlebten.

Ebenso starb das letzte Tier der 3 Jungen nach einer Fütterung, 31. XII., am 9. Tage.

Das zweite der erwähnten Tiere (Tabelle I, Gruppe II, 10) hatte schon einmal vorher, am 8. V., 46 Tage nach der ersten und 18 Tage nach der zweiten Schutzprüfung, drei Junge geworfen, von welchen sich eines gegen zweimalige Fütterung am 22. VI. und 2. VII. resistent erwies. Es erkrankte nur leicht und überlebte mit der Mutter und zeigte im Opsoninversuch Antikörper. Die beiden anderen Jungen erlagen der ersten Infektion.

Offenbar liegt bei diesen Tieren eine aktive Immunität vor, die im fötalen Zustande erworben wurde.

Es zeigten sich also von insgesamt zwölf Jungen aus drei Würfen immuner Mütter letzten Endes 4 Tiere als vollkommen auch gegen wiederholte Fütterungsinfektion geschützt, die übrigen starben (bis auf 2) entweder verzögert oder überlebten sogar (2) die erste Fütterungsinfektion.

Abgesehen von dem theoretischen Interesse, das diese fötale Immunisierung darbietet, sind solche Beobachtungen von praktischer Wichtigkeit. Man wird bei Anwendung von bakteriellen Mäusevertilgungsmitteln gelegentlich mit leichten Erkrankungen und einer Vererbung der Immunität rechnen müssen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß ein Schutz gegen Fütterung mit Mäusetyphusbacillen durch Vorbehandlung mit deren Giften per os bei Mäusen nur schwer gelingt, da nicht nur viele Tiere vorher an Vergiftung sterben, sondern auch nach Überstehen der Vorbehandlung in der großen Mehrzahl noch der Infektion erliegen.

In einigen Fällen aber ist ein Schutz derart gegeben, daß die Fütte-

Tabelle 1. Immunisierung von Mäusen gegen Fütterung mit Mäusetyphusbacillen.

Gruppe	Vorbehandlung 19. II. bis 16. III. 21				Nachprüfung mit lebender Kultur durch Verfütterung je 1 Öse virulenter Passagekultur.				
	Nr.	Art	Menge u. Zeit	Tod n. Tagen	1. Fütterung 28. III.	2. Fütterung 20. IV.	3. Fütterung 11. V.	4. Fütterung 22. VI.	5. Fütterung 2. VII.
I	1	*gefüttert* mit	1,0 am	$\dagger_2$					
	2	d. Chloroform	19. II.	$\dagger_3$					
	3	*abgetöteter*	26. II.	$\dagger_4$					
	4	Bouillonkul-	5. III.	$\dagger_9$					
	5	tur von	16. III.	$\dagger_{15}$					
	6	*Mäusetyphus-*			$\dagger_5$				
	7	*bacillen*			$\dagger_5$				
	8				$\dagger_7$				
	9				$\dagger_9$				
	10				lebt	lebt	lebt		lebt*)
Ia	1	dgl.	1,0 am	$\dagger_5$					
	2		23. II.	$\dagger_5$					
	3		2. III.	$\dagger_5$					
	4		9. III.	$\dagger_7$					
	5		16. III.			$\dagger_5$			
	6					$\dagger_5$			
	7					$\dagger_6$			
	8					$\dagger_7$			
	9					$\dagger_7$			
	10					lebt (n. Krkh.)	lebt		lebt*)
II	1	dgl.	1,0 am	$\dagger_9$					
	2	Bouillon vor-	19. II.	$\dagger_9$					
	3	her noch *auf*	26. II.	$\dagger_{10}$					
	4	*56° 1 Stunde*	5. III.		$\dagger_5$				
	5	*erhitzt*	16. III.		$\dagger_5$				
	6				$\dagger_6$				
	7				$\dagger_7$				
	8				$\dagger_8$				
	9				$\dagger_{10}$				
	10				lebt	lebt, wirft am 8. V. Junge		lebt	lebt*)
III	1	*subcutan*	0,02,	$\dagger_{11}$					
	2	Impfstoff wie	0,04,	$\dagger_{15}$					
	3	I und Ia	0,1,		$\dagger_4$				
	4		0,15		$\dagger_6$				
	5		am		$\dagger_6$				
IV	1	*subcutan*	23. II.	$\dagger_1$					
	2	Impfstoff	2. III.	$\dagger_{11}$					
	3	wie II.	9. III.		$\dagger_6$				
	4		16. III.		$\dagger_9$				
	5				$\dagger_9$				
V	1	Kontrolle			$\dagger_5$ 8. Passage	$\dagger_1$ 9. Passage	$\dagger_6$ 12. Passage	$\dagger_9$ 17. Passage	$\dagger_5$ 18. Passage
	2				$\dagger_5$	$\dagger_5$	$\dagger_7$		$\dagger_5$
	3				$\dagger_6$				$\dagger_6$
	4				$\dagger_9$				
	5				$\dagger_{10}$				

$\dagger_5$ bedeutet: eingegangen nach 5 Tagen.

*) Die überlebenden Tiere zeigten sich auch noch am 1. X. 21 immun; 2 davon wurden am 29. XI. zum sechsten Male gefüttert und überstanden auch diese Probe.



rungsinfektion, welcher normale Mäuse ohne Ausnahme erliegen, nur Erkrankung hervorruft; bei wiederholter Fütterung erkranken die Tiere nicht mehr und zeigen Schutzstoffe im Blute.

Von einer sehr langen Inkubation und einer chronischen Erkrankung wie sie *Marks* annimmt, weil seine Tiere einer späteren Fütterung mit Schweinepestbacillen ohne Ausnahme erlagen, habe ich bei meinen Versuchen mit Mäusetyphus nichts beobachtet.

Der durch Vorbehandlung gegebene Grundschutz verwandelt vielmehr die akute Infektion in eine subakute, welche einen hohen Schutz hinterläßt und von der trächtigen Mutter auf den Foetus übermittelt werden kann.

Auffallend bleibt, daß ein derartiger Grundschutz bei der Maus durch subcutane und intraperitoneale Vorbehandlung, auch langdauernde, wie insbesondere die Versuche von *Marks* zeigen, nicht einzutreten scheint.

Von den subcutan vorbehandelten Mäusen überstand keine die Infektion per os, und es war auch keine Verzögerung des Todes bemerkbar. Da es jedoch nur sechs Tiere waren und von den 18 per os immunisierten nur drei, also im Durchschnitt von je sechs Tieren nur eines, überlebten, bei den eingegangenen aber ebenfalls keine Verzögerung des Todes erkennbar war, so ist die Zahl natürlich zu klein, um daraus zu schließen, daß die subcutane Vorbehandlung weniger wirksam ist; auch ist die Infektionsdosis vielleicht zu groß, um einen geringeren Grad an Immunität erkennen zu lassen. Würden, was nach den Ergebnissen anderer Untersucher (*Marks*) wahrscheinlich ist, auch größere Versuchsreihen mit subcutaner Vorbehandlung negativ ausfallen, so bliebe noch die Frage offen, ob der bessere Erfolg bei den gefütterten Tieren auf der Zufuhr per os oder auf der Menge des zugeführten Antigens beruht, denn, wie erwähnt, erhielten nach Tabelle I die Mäuse per os 13 mal mehr abgetöteter Bouillonkultur als die subcutan vorbehandelten Tiere.

Versuche an Meerschweinchen.

Um die serologischen Verhältnisse bei vergleichenden Immunisierungsversuchen (per os und subcutan) besser in Beziehung zu dem jeweils erzielten Schutze setzen zu können, wurden auch Versuche an Meerschweinchen angestellt; die Erfahrungen über das Verhalten des Meerschweinchens gegen die Bacillen der Paratyphusgruppe, wie auch die Ergebnisse der oben erwähnten Untersuchungen zur Fütterungsimmunität bei diesen Tieren gegen Cholera-, Typhus- und Ruhrbacillen, ließen sie zu solchen Versuchen besonders geeignet erscheinen und interessante Aufschlüsse über das Wesen der Fütterungsimmunität erwarten.

Das Verhalten des Meerschweinchens gegen Fütterungsinfektion mit Vertretern der Paratyphusgruppe ist nur wenig beschrieben worden.



Kutscher und *Meinicke* erwähnen Todesfälle bei Meerschweinchen durch Mäusetyphusbacillen (von 10 Tieren starben 3), während Verfütterung von Paratyphusbacillen keinerlei wahrnehmbare Krankheitserscheinungen verursacht. Die gestorbenen Tiere zeigten deutliche Schwellung und Entzündung der Payerschen Haufen, einige der daraufhin getöteten Paratyphustiere aber auch gegen die Norm leichte Veränderungen an den Lymphknötchen des Darmes.

Eckersdorff erwähnt in seinen „kasuistischen Beiträgen zum Vorkommen von Bacillen der Paratyphusgruppe" eine Meerschweinchenseuche, welche als Pseudotuberkulose aufzufassen und durch der Hogcholeragruppe nahestehende Bacillen verursacht war, und bei welcher „zum Teil auch der Darm, häufiger in Form eines Katarrhs mit diffuser Schwellung der Schleimhaut, bisweilen aber auch mit ausgesprochener Lokalisation an den Drüsenapparaten betroffen erschien; die solitären wie die aggregierten Follikel traten dann als weiche geschwellte Herde über die Umgebung deutlich hervor, oft schon von außen sichtbar oder zeigten in einzelnen Fällen deutliche Geschwürsbildung mit aufgeworfenem, verdicktem Rande. Auch an größeren und kleineren Blutungen in die Mucosa fehlte es nicht, so daß das ganze Bild an den Typhus des Menschen erinnerte. In fast allen Fällen waren die Mesenterialdrüsen, an Milz, Leber und Mesenterium geschwellt, manchmal bis Kirschkerngröße, weich; und von ihrer Schnittfläche, wie von der der geschwellten Darmfollikel gelang es jedesmal, die typischen Bacillen durch Abstreifen herauszuzüchten".

Die Fütterung mit virulenten Mäusetyphusbacillen führte in meinen Versuchen beim Meerschweinchen regelmäßig zur Erkrankung. Je nach der Menge des verfütterten Virus tritt dies in Erscheinung: die Tiere sitzen mit gesträubten Haaren da und fühlen sich heiß an; die Augen sind sehr feucht; aus der Nase fließt Sekret, welches um die Nüstern antrocknet; zuweilen hört man die Tiere husten. Ist die Infektion sehr schwer, so fressen die Tiere nicht mehr, werden hinfällig und unter Diarrhöe tritt der Tod ein.

Überstehen die Tiere, wie meistens bei nicht zu massiger Fütterung, die Infektion, so kommt es nicht zu sehr ausgesprochenen Krankheitserscheinungen; etwa 10—12 Tage danach erscheinen sie wieder ganz munter.

Tabelle II.

23. VI. 1921 werden *6 Meerschweinchen* (300—400 g) mit Mäusetyphusbacillen gefüttert (je $^1/_2$ Kolleschale 24stündiger Kultur).

Davon sterben:

26. VI. *Tier* 1 (*n.* 3 *Tagen*). *Bakteriologisch*: Herz, Blut, Milz und Darm enthalten reichlich Mäusetyphusbacillen; Peritoneum wenige. *Anatomisch*: Schwellung der Milz, Mesenterialdrüsen, der Payerschen Haufen und der Solitärknötchen des Dünn- und Dickdarms; starke Hyperämie der Darmschleimhaut.

29. u. 30. VI. *Tier* 2 u. 3. *Bakteriologisch*: Herzblut und Peritoneum steril, Milz und Darm enthalten mäßig viele Keime; anatomisch, wie bei Tier 1; aber deutlicher ausgesprochene markige Schwellung, und besonders bei Tier 3 starke Nekrose in den Plaques des Blinddarms.

12. VII. *wird Tier* 4 aus der Carotis entblutet und geöffnet. *Anatomisch*: Stark vergrößerte Milz blutreich, weich mit starker Follikelzeichnung; Mesenterialdrüsen geschwellt, ebenso Payersche Plaques in Dünn- und Blinddarm; in Dünndarm zeigen letztere kleinste punktförmige Blutungen, im Blinddarm zahlreiche kleine Nekrosen ohne Geschwürbildung. Kot geformt.

Bakteriologisch: Peritoneum, unterer und oberer Dünndarm, Milz, Gallenblase, Herzblut, Carotis und Jugularis enthalten keine Bacillen, auch nicht nach Galleanreicherung. Tier 5 u. 6 sind trächtig, überleben und werfen Anfang August je 2 Junge.

Tabelle III.

14. VII. 1921 werden Meerschweinchen (von 200—250 g) gefüttert; je 3 Tiere mit $^1/_{100}$ Schrägkultur, $^1/_{10}$ Schrägkultur, 1 ganzen Schrägkultur.

25. VII. 1921 wird von jeder Gruppe ein Tier durch Entblutung getötet.

Obduktionsbefund: Bei allen Tieren Schwellung des lymphatischen Apparates in Darm, Mesenterium und Milz. Petechien unter den Nebennierenkapseln und an den Lungen broncho-pneumonische kleine Herde (am stärksten bei $^1/_{100}$ Kultur; bei $^1/_{10}$ Kultur ein kleiner Infarkt des l. Unterlappens). Die Payerschen Plaques sind hyperämisch und markig geschwellt; an der Colo-cöcalklappe sind bei einem Tier ($^1/_{100}$ Kultur) Nekrosen in Demarkation sichtbar; bei einem anderen ($^1/_{10}$ Kultur) einfache Nekrosen punktförmig sichtbar.

Bakteriologisch: Bei direktem Ausstrich von Peritoneum, Milz, Herzblut, Gallenblase und Darminhalt ist kein Wachstum zu verzeichnen. Bei Abstrich von den Plaques finden sich bei einem Tier ($^1/_{10}$ Kultur) im oberen Dünndarm, bei einem anderen (1 Kultur) im oberen und unteren Dünndarm vereinzelte Keime. Erst die Galleanreicherung fördert aus den zermörserten Plaques und Milzen, nicht aus dem Herzblute, Mäusetyphusbacillen zutage:

Tier vorbehandelt mit	Obere und mittlere Plaques	Untere Plaques	Milz	Herzblut
$^1/_{100}$ Kultur	+++	—	+++	—
$^1/_{10}$ „	+++	Coli überwuchern	+++	—
1 „	+++	+++	—	—

Da das Ergebnis der Fütterungsinfektion bei den drei probeweise getöteten Tieren überall, ohne Rücksicht auf die Infektionsdosis von $^1/_{100}$ bis zu 1 Kultur, ein gleichmäßiges ist, wird auf die Tötung der übrigen 6 Tiere verzichtet. Die Tiere leben Ende August noch alle munter.

Es hängt in weitem Maße von der Wahl der Infektionsdosis ab, ob man einen im allgemeinen benignen Verlauf der Erkrankung oder eine unter dem Bilde der akuten Intoxikation verlaufende tödliche Infektion erzielt. Im letzteren Falle tritt mit Regelmäßigkeit eine akute Gastroenteritis in Erscheinung, die an den aggregierten Follikeln besonders stark ausgesprochen ist und im Laufe weniger Tage (5—6) zu tiefgreifenden Nekrosen an den lymphatischen Apparaten führt; im ersteren Falle treten gelegentlich mit Beginn der dritten Woche, unter Abstoßung der Nekrosen, Geschwüre zutage, welche denen des

Typhus völlig gleichen. Stirbt ein Tier weiterhin interkurrent, so sieht man an den noch etwas unregelmäßigen, buchtigen Oberflächen der Plaques den abgelaufenen Prozeß der Geschwürsbildung und der frischen Epithelialisierung des Defekts. (Siehe Tabelle V, II, 2. Anmerkung.)

Den Verlaufsarten und ihren anatomischen Bildern entsprechend ist die Verteilung der Bacillen im Organismus. Bei der akuten Form sind Blut- und Lymphbahn mit Keimen überschwemmt, während im Darme nur wenige aufzutreten brauchen, bei der subakuten nehmen die Keime im Blute und Peritoneum ab, die Milz ist der Hauptort des Vorkommens, im Darm nehmen sie der Ausscheidung entsprechend zu; bei der chronischen typhösen Form verschiebt sich das Verteilungsbild noch stärker nach dem Darme hin, in dessen oberen gallereichen Abschnitten die Bacillen in Reinkultur auftreten können, insbesondere aber in den Plaques; aus diesen lassen sie sich zuweilen nur durch Anreicherung oder auch gar nicht mehr züchten.

Erwähnenswert erscheint eine Beobachtung von akutem Einbruch bei einer latenten Infektion. Bei einem trächtigen Tiere, welches durch Fütterung mit abgetöteten Bacillen lange vorbehandelt worden war und die Fütterung mit lebenden Bacillen überstanden hatte, trat im Anschluß an den Wurf von zwei Jungen plötzlich eine schwere septische Endometritis auf, der das Tier in 3 Tagen erlag. Während das Blut steril blieb, wuchsen aus Milz und Darm Reinkulturen von Mäusetyphusbacillen. (Siehe Tabelle V, Gruppe II, 1; ähnliche Beobachtung siehe Tabelle IV, I, 3.)

Immunisierungsversuche bei Meerschweinchen gegen i. p. Infektion mit Mäusetyphusbacillen.

In Tabelle 4 sind drei Gruppen der Vorbehandlung zu unterscheiden:

1. durch Verfütterung großer Mengen lebender, 2. durch Verfütterung gleicher Mengen abgetöteter (im ganzen je 18 Kulturen). 3. durch subcutane Injektion abgetöteter Kultur (im ganzen etwa je 1 Kultur). Die Einzelheiten über die Art und den Erfolg der Immunisierung gehen aus der Tabelle 4 hervor.

Die Prüfung der 9 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung entnommenen Blutproben ergab mäßige Werte für die Agglutinine und Tropine bei der ersten, keine sicher feststellbaren bei der zweiten und weitaus die besten bei der dritten Gruppe von Tieren.

Die Infektion wurde, wie weiter ersichtlich, 29 Tage nach der letzten Vorbehandlung vorgenommen, mit einer offensichtlich zu massiven Dosis von je einer Öse i. p. ($^1/_{1000}$ Öse i. p. töteten Kontrollen noch innerhalb von zwei Tagen).

Das Ergebnis war überall ein wenig befriedigendes und zeigt, wie schwer bei hochvirulenten Stämmen — es wurde in allen Versuchen sowohl zur Vorbehandlung wie zur Nachprüfung, immer der jeweilige frische Mäusepassagestamm verwendet — auch bei Meerschweinchen



Tabelle IV. ***Immunisierung von Meerschweinchen gegen i. p. Infektion mit Mäusetyphusbacillen.***

Gruppe	Nr.	Vorbehandlung mit Mäusetyphusbacillen (Mäusepassagekultur) *19. III.—16. IV. 1921*	Serologisches Ergebnis n. Blutentnahme *25. IV.*		Nachprüfung am *10. V.* durch i. p. Infektion				Leichenbefund
			Agglut.-Prüfung	Tropin-prüfung	Bakterien-menge	Exsudatbeobachtung nach 20 Min.	Exsudatbeobachtung nach $1^1/_2$ Std.	Aus-gang	
I	1	5 × im Abstande von je acht Tagen mit *lebenden Bacillen gefüttert* (2, 2, 4, 4, 6—8 Kulturen).	1 : 20 (−)	0,1(+ + + +)	1 Öse		*Sehr wenige Bacillen*, viele *Leukocyten* mit Bacillen u. *Granula vollgepfropft.*	† 16. V.	Sepsis, markige Schwellung bes. im Coecum.
	2		1 : 100 (+)	0,001 (+) 0,003 (+ +) 0,01 (+ + +)	1 Öse	Viele freie Bacillen, z. T. in Haufen, wenige Leukocyten.	Vereinz. Bacillen, Leukocytenhaufen mit wenigen erhaltenen Bacillen und *Granula in den Zellen.*	† 17. V.	dgl.
	3								† 5. IV. (17 Tage nach Beginn der Vorbehandl. a. Typhus exulcerativus ilei et coeci u. Abortus septicus typhosus.
II	1	5 × im Abstande von je acht Tagen mit *abgetöteten Bacillen gefüttert* (2, 2, 4, 4, 6 Kulturen).	1 : 10 (−)	0,1 (±)	1 Öse	Zahlreiche freie Bacillen, wenige Leukocyten.	*Wenige Bacillen*, z. T. in Haufen: *mäßig zahlreiche Leukocyten mit Bacillen vollgepfropft.*	† 11. V.	Peritonitis und Sepsis, starke Rötung und Schwellung der Payerschen Plaques.
	2		1 : 10 (−)	0,1 (±)	1 Öse		dgl.	† 11. V.	dgl.
	3		1 : 10 (−)	0,1 (±)	1 Öse	dgl.	Wie vor, aber *etwas mehr freie Bacillen.*	† 11. V.	dgl.
III	1	5 × im Abstande von je acht Tagen mit *abgetöteten Bacillen subcutan* vorbehandelt ($^1/_{16}$, $^1/_8$, $^1/_8$, $^1/_4$, $^1/_2$ Kultur.	1 : 1000 (±) 1 : 500 (+)	0,001(+ + +)	1 Öse	Wenige freie Bacillen, z. T. in Haufen, starke Leukocytose. Endothelienhaufen haben schon phagocytiert.	*Sehr wenige Bacillen, viele Leukocyten u.-Trümmer* (Kugeln), einige Leuk. noch *mit Bacillen vollgepfropft.*	† 15. V.	Sepsis und Peritonitis, markige Schwellung, besonders im Coecum.
	2		1 : 1000 (±) 1 : 500 (+)	0,001(+ + +)	1 Öse	Viele freie Bacillen, z. T. in Haufen, mäßige Leukocytose (mononucl.?) und Phagocytose.	dgl.	† 15. V.	dgl.
	3		1 : 1000 (+) 1 : 500 (+ +)	0,001(+ + +)	1 Öse	Viele freie Bacillen, z. T. in Haufen, zahlreiche Leukocyten, Endothelienhaufen haben gefressen.	Noch *zahlreiche Bacillen*, meist in aggl. Haufen, viele *Leukocyten* und -Trümmer, *z. T. mit Bacillen vollgepfropft.*	† 15. V.	dgl.
IV	1	Kontrollen zur Virulenzprüfung.	1 : 10 (−)	0,1 (±)	1 Öse	*Zahlreiche bewegliche Bac., vereinzelte Leukocyten* u. Endothelien *keine Phagocytose.*	*Massenhaft Bacillen*, zahlreiche Leukocyten, Phagocytose, Zerfall.	† 11. V.	Peritonitis und Sepsis, starke Rötung und Schwellung der Follikel und Plaques.
	2		1 : 10 (−)	0,1 (±)	$^1/_{10}$ Öse			† 11. V.	dgl.
	3				$^1/_{100}$ Öse			† 11. V.	dgl.
	4				$^1/_{1000}$ Öse			† 12. V.	dgl.

Schutz gegen intraperitoneale Infektion erzielt wird. Immerhin überlebten die beiden Tiere der ersten Serie (Fütterung mit lebender Kultur) 6 und 7 Tage, die drei der dritten (subcutan vorbehandelt mit abgetöteter Kultur) 5 Tage, die drei der zweiten (Fütterung mit abgetöteter Kultur) wurden mit den Kontrollen nach 20 Stunden tot aufgefunden.

Die Prüfung des Peritonealexsudats ergab markante Unterschiede: Während die Kontrollen bewegliche Bacillen in massenhaftem Anwachsen und eine spät und unter Zerfall einsetzende Leukocytose und Phagocytose darbieten, zeigt Serie II erhebliche Abnahme der unbeweglichen Bacillen und Agglutination; die mäßig zahlreichen Leukocyten sind mit Bacillen vollgepfropft, allerdings ohne erhebliche intracelluläre Granulabildung.

Serie III, welche die besten Sera aufweist (Tropintiter 0,001 [+++]), zeigte zwar früh einsetzende starke Leukocytose, bei mäßiger mononucleärer Phagocytose (Endothelien!); die Bacillenzahl nimmt aber nicht entsprechend ab. Nach der Phagocytose zerfallen die Zellen rapide. Die Umwandlung der aufgenommenen Stäbchen in Granula bleibt meistens aus. Interessant ist in dieser Gruppe die lebhafte Beteiligung der Endothelien zu Beginn der Phagocytose.

In Gruppe I hingegen scheint die Leukocytose mäßig einzusetzen, vermindert aber die Zahl der freien Keime rasch durch Phagocytose und intracelluläre Granulabildung.

Eine extracelluläre Granulabildung, wie sie von *Kutscher* und *Meinicke* in ihren Versuchen zur aktiven Immunität gegen Paratyphus- und Mäusetyphusbacillen beim Meerschweinchen beschrieben wird, wurde in keinem Falle beobachtet.

In diesem Versuche schützte also ein Überstehen der Erkrankung nach Fütterung (typhöse Form) auch gegen parenterale Infektion immerhin noch am besten, etwas weniger gut die subcutane Vorbehandlung mit abgetötetem Gifte. Das Ergebnis steht im Widerspruche mit der serologischen Analyse des Schutzes, welche das Umgekehrte hätte erwarten lassen.

Verfütterung abgetöteter Bakterien in gleicher Menge wie der lebenden ergab keine nachhaltige Immunität, während die gleiche Vorbehandlung Mäuse, gegen Infektion per os allerdings, einigermaßen geschützt hatte.

Wie die Beobachtung des Exsudates zeigte, spielen bei der Abwehr offenbar die Vorbedingungen der endocellulären Verdauung der Bacillen eine viel wichtigere Rolle, als die Intensität der Phagocytose. Von den Bedingungen der endocellulären Verdauung hängt wohl überhaupt die Vernichtung der Bacillen ab. Das spricht für einen Immunitätsmechanismus, welcher mit der Phagocytose der Bacillen in Wirksamkeit



tretende Gifte unschädlich macht und so erst die endocelluläre Verdauung der Mikroben gestattet.

Ein passiver Schutzversuch mit den Seren dieser Meerschweinchen an Mäusen hatte das Ergebnis, daß Serum I vor den übrigen Gruppen wenigstens eine Verzögerung der tödlichen Fütterungsinfektion zu gewähren schien. (Tab. IVa.)

Die Fütterung mit abgetöteten Bacillen erzeugt nach diesen Versuchen bei Meerschweinchen einen, im Vergleiche zur subcutanen Vorbehandlung mit dem gleichen Gifte, kaum merklichen Schutz, während den besten Schutz die Fütterungsinfektion hinterläßt. Dieser Schutz kommt serologisch in vitro nur wenig zum Ausdruck.

Tabelle IVa.

Die am 25. IV. 1921 entnommenen *Meerschweinchensera* werden *an Mäusen prophylaktisch* ausgewertet: Die Tiere erhalten am 10. V. Serum subcutan: 24 Stunden später je eine Öse virulenter Passagekultur verfüttert.

Vorbehandlung mit Serum	10.V.	11.V.	12.V.	13.V.	14.V.	15.V.	16.V.	17.V.	18.V.	19.V.	20.V.	21.V.	22.V.	23.V.
Gruppe I (leb. gef.). 0,25									+				+	
Gruppe II (m. abget. Kultur gefüttert). 0,25								+ +						
Gruppe III (subc. vorb.) 0,3								+		+				
Gruppe IV (unvorbeh.) 0,5								+	+					
Kontroll-Passagetiere —								+	+					
Tod nach Tagen:								6.	7.	8.	9.	10.	11.	

Die folgenden Versuche sollten die Frage entscheiden, ob sich durch Fütterung mit abgetöteten Mäusetyphusbacillen auch bei Meerschweinchen Immunität gegen Infektion per os erzeugen läßt.

Als Kontrollen dienten, wie aus Tabelle V ersichtlich, ein Meerschweinchen, welches einmal bei Beginn der Fütterung mit lebender Kultur gefüttert und, wie gewöhnlich, leicht erkrankt, aber davongekommen war, und drei normale Tiere. Die Einzelheiten sind aus der Tabelle klar ersichtlich, was die Dauer der Fütterung, Art und Menge des jeweils verfütterten Impfstoffes betrifft.

Acht Tage nach der 19. Fütterung wurde den Tieren Blut entnommen und das Serum auf Agglutinin, Lysin und Tropin geprüft. Es ergab sich ein recht mäßiger aber gegenüber den Kontrollen deutlicher Gehalt an Agglutininen und Tropinen, insbesondere bei dem fütterungsinfizierten und den mit Chloroformgift vorbehandelten Tieren. Der bactericide Plattenversuch fiel negativ aus, wie zu erwarten.



Tabelle V.

Immunisierung von Meerschweinchen gegen Fütterung und gegen nachfolgende i. p. Infektion mit Mty-Bacillen.

Gruppe	Nr.	Vorbehandlung durch Fütterung, *1. XII. 1920—18. I. 1921*	Ergebnis der Blutuntersuchung am *17. I.* Agglut.	Tropism.	1. Schutzprüfung d. Fütterung mit je 1 Kultur lebender Bacillen, *25. I.*	2. Schutzprüfung durch i. p. Injektion von je $^1/_6$ Öse virulenter Mty-Bacillen: Datum	Exsudatbefund nach $1^1/_2$ Std.	Ausgang	Leichenbefund und Bemerkungen
I	1	*Mit lebenden Bacillen* 1 Kultur am 2. XII. 20.	1:20 (+) 1:50 (±)	0,1 (+ + +)	Zeigt keinerlei merkliche Erkrankung.	8. II.	Nach 10′ Leukocytose u. Phagocytose; keine freien Bacillen, nach 2 Stunden noch stärker. Bacillen in d. L. verdaut.	† 16. II. (8)	Peritonitis. Blut steril, Periton., Milz, Darm, wenige Keime.
II	1		1:10 (±)	0,1 (+ +)	dgl.				† 24. II. an foudr. Mty-Sepsis. Endometritis n. Partus 21. II; bis dahin vollständig munter.
	2	*Mit abgetötet. Bouillonkultur* (Chloroform)	1:50 (+) 1:100 (±)	0,1 (+ + +)	dgl.	9. II.	Nach $1^1/_2$ Std. starke Leukocytose u. Phagocytose, keine freien Bacillen.	lebt (vgl. Anm.)	(† 8. IV.)
	3	(15×2,0, 5×4,0)	1:10 (±)	0,1 (+ +)	dgl.	10. II.	Nach $1^1/_2$ Std. starke Leukocytose u. Phagocytose; vereinzelte freie Bacillen.	† 17. II. (7)	Peritonitis und Sepsis, In perit., Milz, Herzblut. Darm, Reinkultur Mty.
	4	*17. I. Blutentnahme* nach der 19. Fütterung am 10. I. 21.	1:10 (+) 1:20 (±)	0,1 (+ +)	dgl.	5. III.		lebt	(26. VI.)
III	1		1:10 (±)	0,1 (+)	dgl.	8. II.	Nach 10′ geringe Leukocytose u. Phagocytose (Zerfall!). Viele Bac., n. 2 Std. viele Leukocyten, Phagocytose. Mäßig zahlreiche freie Bacillen.	† 16. II. (8)	Peritonitis und Sepsis, Herzblut steril. In Perit., Milz, Darm, wenige Keime.
	2		1:10 (±)	0,1 (+)	dgl.	9. II.	Nach $1^1/_2$ Std. mäß. Leukocytose und Phagocytose, vereinzelte freie Bacillen, Leukocyten-Zerfall.	† 16. II. (7)	Peritonitis und Sepsis, Perit., Milz, Darm, Herzblut-Reinkultur.
	3	*Mit abgetöteter Bouillonkultur* (Chloroform, danach *1h 56′*), im übrigen wie II.	1:10 (±)	0,1 (+)	dgl.	10. II.	Nach $1^1/_2$ Std. mäßige Leukocytose u. Phagocytose; etwas Zerfall, wenige freie, unbewegliche Bac.	lebt	(26. VI.)
	4		1:10 (±)	0,1 (+)	Krank (klein, überhaupt in der Entwickl. zurückgebl.).	5. III.		† 13. III. (8)	Peritonitis und Sepsis, Perit., Milz, Darm, Herzblut-Reinkultur.
	5		1:10 (±)	0,1 (+)	Zeigt keinerlei merkliche Erkrankung.	5. III.		lebt (vgl. Anm.)	(† 21. V.)

Tabelle V (Fortsetzung).

Gruppe	Nr.	Vorbehandlung durch Fütterung, *1. XII. 1920—18. I. 1921*	Ergebnis der Blutuntersuchung am *17. I.*		1. Schutzprüfung d. Fütterung mit je 1 Kultur lebender Bacillen, *25. I.*	2. Schutzprüfung durch i. p. Infektion von je $^1/_4$ Öse virulenter Mty-Bacillen			Leichenbefund und Bemerkungen.
			Agglut.	Tropism.		Datum	Exsudatbefund nach $1^1/_2$ Std.	Ausgang	
IV	1	*Kontrollen für die erste Schutzprüfung* d. Fütterung.	1:10(±) [NaCl( )	0,1 (±) (±)]	Erkranken sichtlich (Schwäche, Abmagerung, Hitze, Nasenlaufen) erholen sich aber nach 10—12 Tagen.	8. II.	Nach 10′ freie Bacillen, wenige Leukocyten, geringe Phagocytose. Nach 2 Std. viele Leukocyten, auch Phagocytose, mäßig zahlreiche Bacillen.	† 17. II. (9)	Peritonitis und Sepsis, Perit., Milz, Herz, Darm, Reinkultur Mty-Bacillen.
	2					9. II.	Nach $1^1/_2$ Std. mäßige Leukocytose u. Phagocytose. Vereinz. unbew. freie Bacillen, z. T. Zerfall der L.	† 21. II. (11)	dgl.
	3					10. II.	Nach $1^1/_2$ Std. mäßige Leukocytose u. Phagocytose; mäßig zahlr. unbewegl. Bacillen; etwas Zerfall der Leukocyten.	† 15. II. (5)	dgl.
V	1	*Kontrollen für die zweite Schutzprüfung* d. i. p. Infektion.				9. II.	Nach $1^1/_2$ Std. geringe Leukocytose u. Phagocytose; starker Zerfall der L. Massenhaft bewegliche Bacillen.	† 10. II. (1)	dgl.
	2					10. II.		† 11. II. (1)	dgl.
	3					5. III.		† 6. III. (1)	dgl.

Anmerkungen zu Tabelle V.

Zu Gruppe II: *Tier* 1. War bis 21. II. vollständig munter, hochträchtig, warf am 21. II zwei Junge, verfiel dann zusehends und ging an septischer Endo- und Perimetritis zugrunde am 24. II. *Bakteriologisch*: Peritoneum und Herzblut steril; Milz und Darm enthalten zahlreiche Mäusetyphusbacillen.

Zu Gruppe II: *Tier* 2. Überlebt i. p. Impfung munter. † (8. IV.) 2 Monate danach. *Anatomisch*: Abgelaufene Perikarditis mit fast völliger Verwachsung beider Blätter und mächtiger Schwartenbildung und restierendem klarem Exsudat. Vollständige Hepatisation der linken Lunge und des rechten Ober- und Mittellappens. Milz nur wenig vergrößert. Im Darm abgelaufene Typhusgeschwürsbildung im unteren Dünn- und Blinddarm (Klappen!). Peritonealexsudat wie im Perikard. *Bakteriologisch*: Peritoneum, Milz,

(Fortsetzung der Anmerkungen S. 65).

Perikard steril. Im Herzblute (Schnitt durch perikarditische Verwachsung beider Blätter) vereinzelte Keime. Todesursache: Herzinsuffizienz (durch die chron. Perikarditis, bei fast völliger Ausschaltung der Respiration) bei dem wohl ausgewachsenen, außerordentlich fetten Tiere. Die aus dem Herzblute gezüchteten Keime verhalten sich kulturell und biologisch wie der Ausgangsstamm; nur hat der Stamm *offenbar an Virulenz eingebüßt*; von zwei damit, wie gewöhnlich, 14. IV. gefütterten Mäusen stirbt die eine typisch nach 6 Tagen; die andere überlebt die Fütterung, ebenso eine Fütterung mit dem virulenten Passagestamm am 11. V. sowie am 2. VII. Eine ähnliche Abschwächung zeigte sich auch bei langer Haltung des Stammes auf flüssigem Nährboden. Von einem Lackmusmolkeröhrchen (11. III.) wird am 21. IV. eine Schrägkultur angelegt, am 22. IV. wird von dieser an eine Maus verfüttert, welche ohne sichtliche Erkrankung überlebt. Auch die Fütterung am II. V. überlebt dies Tier sowie die am 2. VII.

Zu Gruppe II. Tier 4. Überlebt die i. p. Infektion am 5. III.; ist aber am 12. III. sehr hinfällig; erholt sich dann in den folgenden Tagen zusehends; 26. VI. noch munter.

Zu Gruppe III. Tier 3 überlebt munter die i. p. Injektion am 10. II.; wirft am 14. II. zwei ausgetragene Junge; lebt noch munter am 26. VI.

Zu Gruppe III. Tier 5. Überlebt ohne Besonderheit i. p. Infektion am 5. III.; † 21. V. 1921. Anatomisch: Chronische indurierende Perikarditis; unter vollständiger Verwachsung des Perikards mit dem Herzen; chron. eitrige und fibrinöse Perikarditis, besonders mediastinal, in Eintrocknung; rechte Lunge fast hepatisiert; aus der schon etwas kadaverösen Leiche wird, besonders aus Blut und Milz, neben vereinzelten Kokken, fast in Reinkultur, Bac. avi septicus gezüchtet.

Tabelle Va.

Die am 17. I. 21 entnommenen *Meerschweinchenseren* wurden am 3. II. 21 an *Mäusen geprüft:* die Tiere erhalten je 1,0 Serum subcutan; 24 Stunden danach je eine Öse einer virulenten Mty-Kultur verfüttert.

Vorbehandelt mit Serum der	3. II.	4. II.	5. II.	6. II.	7. II.	8. II.	9. II.	10. II.	11. II.	12. II.	13. II.	14. II.
Serie II. (Mischserum) 3 Mäuse	subc. Injektion	gefüttert					† (5)	† (6)				† (10)
Serie III. (Mischserum) 3 Mäuse							† (5)	† (6)		† (8)		
Serie IV. (Tier 1) 3 Mäuse							† (5) † (5)		† (7)			
Unvorbehandelt 4 Mäuse						† (4)	† (5) † (5)	† (6)				

† (5) bedeutet: tot am 5. Tage nach Fütterung.

Wiederum 8 Tage später wurden die Tiere durch Fütterung mit lebenden Bacillen (je einer Schrägkultur) geprüft, in der Erwartung, daß wenigstens einige der Kontrollen der Infektion erliegen würden. Dies trat zwar nicht ein, wohl aber erkrankten die Kontrollen sichtlich, erholten sich aber nach 10—12 Tagen wieder, während die vorbehandelten Tiere keinerlei sichtbare Zeichen der Erkrankung darboten.

Nun wurden, beginnend 14 Tage nach der Fütterungsinfektion, die Tiere serienweise mit je $^1/_5$ Öse 24stündiger Kultur des jeweils frisch aus verendeten Mäusen gezüchteten Passagestammes intraperitoneal infiziert, und zwar, wie aus der Tabelle ersichtlich, in jeder Serie wenigstens zwei vorbehandelte Tiere, außerdem ein latent infiziertes (Kontrolle der vorhergehenden Fütterung) und ein normales Tier.

Die Gruppen wurden nach 14, 15, 16 und 39 Tagen geprüft mit dem Ergebnis, daß die Hälfte der vorbehandelten Tiere die Superinfektion überstanden, die andere Hälfte mit einer Verzögerung von 6—7, die latent infizierten Tiere (1. Kontrollreihe) mit einer Verzögerung bis zu 8 und 10 Tagen, die normalen Tiere dagegen (2. Kontrollreihe) innerhalb 24 Stunden starben.

Die per os erzeugte latente Infektion (siehe auch Tabelle IV, Gruppe I) gewährte also einen gewissen Schutz gegen i. p. Infektion, welcher sich in erheblicher Verzögerung des Todes dokumentiert. Die Vorbehandlung durch Fütterung mit abgetöteten Bacillen und darauf erfolgte Infektion per os erzeugt aber einen viel erheblicheren Schutz, indem die Hälfte der Tiere überlebte.

Charakteristisch ist wieder das Exsudat der Tiere. Bei den mit lebenden Bacillen und mit Chloroformgift vorbehandelten Tieren war nach $1^1/_2$ Stunden eine starke Leukocytose und Phagocytose entwickelt, bei Fehlen freier Bacillen und fast vollendeter Verdauung der Stäbchen in den Zellen, bei den mit 56°-Gift vorbehandelten Tieren eine bei weitem geringere Leukocytose und Phagocytose, die zum Ausdruck kommt in einer nicht unbeträchtlichen Zahl freier, wenn auch unbeweglicher Bacillen, insbesondere aber in der mangelhaften endocellulären Verdauung der Stäbchen und mehr oder weniger starkem Zerfalle der beladenen Leukocyten.

Das gleiche Bild bieten die bei der ersten Prüfung durch Fütterung latent infizierten Tiere, während die Normaltiere (2. Kontrollreihe) bei geringer Leukocytose und Phagocytose, unter starkem Zerfalle der Zellen, massenhaft lebhaft bewegliche Stäbchen im Exsudat enthalten.

Eine Bakteriolyse wurde im Peritonealexsudat niemals beobachtet.

Zunächst ist es von nicht geringem Interesse, daß eine sichtliche Erkrankung der vorbehandelten Tiere bei Fütterung mit lebenden Bacillen ausbleibt, welche die Kontrollen mit Sicherheit krank machen. Leider wurde dieser Unterschied in seiner anatomischen Ausprägung am lymphatischen Apparat des Meerschweinchendarmes bisher noch nicht studiert; eine solche Untersuchung würde vielleicht ein Urteil über die Wirkung einer enteralen und parenteralen Schutzimpfung mit abgetöteten Bacillen gestatten und dann eine wichtige Analogie für die Typhusschutzimpfung beim Menschen bieten.

Der Grad der Erkrankung hängt, wie Tabelle II und III oben dartut, davon ab, ob man mit mäßigen oder großen Mengen von Bacillen (mehr als eine Schrägkultur bei unserem Stamm) infiziert, doch scheint es erst bei sehr großen Mengen (5 Kulturen) mit einer gewissen Regelmäßigkeit zu einem akuten Tode unter dem Bilde der Gastroenteritis zu kommen, wobei wohl direkte Giftwirkung (wie bei den Mäusen) eine Rolle spielt. Die Fütterung mit einer Schrägkultur war nicht wesentlich verschieden in ihrer Wirkung von der mit $^1/_{100}$ Kultur.

Von den Versuchstieren ist auch nur eines spontan gestorben, und zwar nach 30 Tagen im Anschlusse an einen Wurf, welcher zu akutem Einbruche auf dem Genitalwege führte, wie in der Anmerkung, Tabelle V, erläutert wird.

Dieses erste Ergebnis des Versuches läßt die orale Mäusetyphusinfektion als besonders geeignetes Objekt zum Studium der pathologischen und bakteriologischen Sachverhalte des normalen und des parenteral oder enteral immunisierten Meerschweinchens erscheinen und bietet viele Analogien zum Typhus, Paratyphus und der paratyphösen Gastroenteritis des Menschen (Fleischvergiftung) sowie gewissen septischen Aborten der Tiere.

Die serologischen Werte bei den durch die Fütterung mit abgetötetem Material vorbehandelten Tieren stehen in gar keinem Verhältnis zu ihrer aktiven Immunität gegen Fütterungsinfektion, wobei die Einschränkung gemacht werden muß, daß doch wohl in jedem Falle eine leichte, latente Infektion statt hat.

Wesentlich erscheint, daß die Hälfte der zunächst lange mit abgetöteter, dann einmal mit lebender Kultur gefütterten Meerschweinchen die i. p. Superinfektion überlebt, während die nur einmal mit lebender Kultur gefütterten (und dadurch latent infizierten) Tiere eingehen. Bei den ersteren ist durch die latente Infektion eine Verstärkung des schon bestehenden Schutzes gegen die spätere Superinfektion erzielt worden, welcher sich aus den serologischen Ergebnissen der Vorbehandlung nicht ablesen läßt, vielmehr erst durch die latente Infektion vollendet sein muß, wofür auch der besonders günstige Ausgang bei der III. Gruppe spricht. Es ist anzunehmen, daß dieser verstärkte Schutz eine weitgehende Giftgewöhnung des Organismus zur Voraussetzung hatte, welche durch die lange Fütterungsvorbehandlung bewirkt wurde und nachweisbar zu einer Grundimmunität geführt hatte.

In diesen Zusammenhang gehört auch der eigentümliche Befund bei Tier 2 der II. Gruppe, welches 2 Monate nach der Superinfektion an einer schwieligen Perikarditis und Hepatisation der Lungen starb und im Herzblut (vom Schnitte des schwielig verwachsenen parietalen und visceralen Perikardblattes?) noch einige Keime des Infektes von abgeschwächter Virulenz beherbergte. Ein Befund, der wohl in Analogie



zu den Verhältnissen bei Bacillenträgern zu setzen und dessen Lokalisation dadurch bedingt sein dürfte, daß 8 Tage vor der ersten Fütterungsinfektion durch Herzpunktion Blut entnommen worden war. Offenbar hatte dieser Eingriff mit seinen Folgen des Blutaustrittes und der anschließenden pathologischen Vorgänge zur Lokalisation des Virus geführt, die noch lange nach eintretender Immunität nachweisbar blieb.

Ein ähnliches Vorkommnis beschreibt *Citron* bei der Immunisierung von Kaninchen gegen Schweinepestbacillen, in welchen sich die lebenden Erreger $^1/_2$ Jahr im Eiter der subcutanen Impfstelle hielten, ohne den mindesten Schaden zu tun. Er nimmt allerdings an, daß der erzielte Schutz, bei der Schwierigkeit und Unsicherheit der Immunisierung dieser Tiere gegen Schweinepestbacillen, gerade durch die chronische Infektion der Impfstelle hervorgerufen sei.

Überblickt man die Ergebnisse der Immunisierung von kleinen Versuchstieren gegen die Vertreter der Paratyphusgruppe, so ist die aktive Immunisierung gegen hochvirulente als Septicämieerreger wirkende Stämme außerordentlich schwierig oder wenigstens nur unregelmäßig zu erzielen.

Der Grad der erzielten Immunität ist, wenn man die verschiedenen quantitativen Verhältnisse der Dosierung des Virus je nach der Impfart (subcutane, intravenöse Injektion oder Verfütterung) berücksichtigt, im Grunde wohl davon abhängig, ob es zu einer subchronischen Infektion kommt oder nicht.

Je nach der Virulenz eines Stammes gelingt es mehr oder weniger leicht, durch geeignete Vorbehandlung die akute Infektion in eine chronische zu verwandeln und so Verhältnisse zu schaffen, welche einer unter natürlichen Bedingungen (nämlich durch eine mehr oder weniger leicht verlaufende Krankheit) erfolgenden Immunisierung sich angleichen. Die Vorbehandlung der Maus mit schwach virulenten oder mit abgetöteten Bacillen schützt, wie schon *Wolf* bemerkte, nicht gegen die Infektion.

Bei geschützten Tieren nimmt die Infektion einen gutartigen Verlauf, welcher die Immunität gewissermaßen vollendet, denn spätere Fütterungen solcher Tiere bleiben in der Regel ohne krankmachenden Effekt. Die enterale Vorbehandlung mit abgetötetem Virus scheint hier der parenteralen überlegen zu sein.

Das Meerschweinchen, welches weit weniger empfindlich, aber doch genügend empfänglich gegen die Fütterungsinfektion mit hoch virulenten Erregern ist, macht, auch bei verhältnismäßig geringen Dosen ($^1/_{100}$ Schrägkultur) den natürlichen Immunisierungsgang einer spezifischen Erkrankung durch (entsprechend einem leichten Typhus), welche einen hohen Schutz hinterläßt. Gegen sehr virulente Erreger



ist dieser Schutz aber, bei peritonealer Prüfung, durchaus kein absoluter. Interessant ist die Neigung des Virus, bei etwas längerem Überleben des Tieres denselben Krankheitsprozeß in anatomischer Hinsicht auszubilden, wie er bei der Fütterungsinfektion zutage tritt, wobei sich das Bild des Typhus im Stadium der markigen Schwellung des Drüsenapparates darbietet. Auch bei subcutaner oder peritonealer Infektion stellt sich, je nach der Dauer der folgenden Erkrankung das natürliche Bild der lymphatischen Lokalisation des Virus ein (Darm-, Mesenterialdrüsen, Milz).

Eine relativ hohe Immunität wird offenbar nur durch das Überstehen der Krankheit erworben. Nur eine Erkrankung, d. h. eine chronische Infektion erzeugt durch die länger dauernde Wechselwirkung zwischen Organismus und Infekt dieses relative Gleichgewicht, d. h. Immunität.

Literaturverzeichnis.

[1]) *Brückner*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **8**, 439. — [1a]) *Chvostek*, Wien. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 14. — [2]) *Julius Citron*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **53**, 159 u. 515. — [3]) *Eckersdorff*, Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exper. Therapie zu Frankfurt a. M., Heft 4, 1908. — [4]) *Ficker*, Kolle-Wassermann **3**. 1912. — [5]) *Friedberger*, Zentralbl. f. Bakteriol. **40**. 1906. — [6]) *Hido* und *Toyoda*, Zentralbl. f. Bakteriol. Ref. **42**, 418. — [7]) *Korthe*, Zeitschr. f. Hyg. **44**. 1903. — [8]) *Kurth*, Dtsch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 30/31. — [9]) *Kutscher* und *Meinicke*, Zeitschr. f. Hyg. **52**, 301. — [10]) *Lippmann*, Med. Klin. 1910, Nr. 38. — [11]) *Löffler*, Gedenkschrift f. Leuthold **1**. 1906. — [12]) *L. H. Marks*, Arbeiten a. d. Kgl. Inst. f. exper. Therapie zu Frankfurt a. Main. Heft 4, 1908. „Fütterungsstudien an Mäusen mit einem Bacillus der Paratyphusgruppe". — [13]) *Shiga*, Zentralbl. f. Bakteriol. Ref. **42**, 419. — [14]) *Wolf*, Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 6. — [15]) *Yoshida*, Arch. f. Hyg. **69**, 21. — [16]) *Zeitlin*, Zentralbl. f. Bakteriol., Ref. **36**. 1905. — Weitere Literatur siehe besonders bei *Brückner* sowie *Ficker* und Zentralbl. f. Bakteriol. Ref. **42**, 420 u. 421. 1909.



(Aus dem Institut „Robert Koch“ zu Berlin.)

Über die Rolle der Tropine und Antitoxine bei der experimentellen Choleraimmunität.

Von

Dr. **Otto Ornstein,**

ehem. Assistent am Institut.

Bakteriolytische und antitoxische Cholerasera.

Die in nachstehendem mitgeteilten Versuche gehen in den zugrunde liegenden Erfahrungen und Anschauungen zum großen Teil auf die Jahre 1911 und 1912 zurück, in welchen ich als Assistent des Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ teils in Berlin, teils in El Tor bei der Mekkapilgerquarantäne über Cholera zu arbeiten Gelegenheit hatte.

Pfeiffer hat zuerst die Natur des Choleragiftes und seiner antigenen Wirkungen bestimmt und mit dem Nachweis der Endotoxine und der bakteriolytischen Immunität den Grund gelegt, auf welchen weiter gebaut werden konnte.

Die Arbeiten von *Brau* und *Denier*, *Kraus* und seinen Schülern über die Vibrionenhämolysine und -neurotoxine vermochten, so wertvoll der Nachweis dieser echten Toxine war, der „Endotoxintheorie“ keinen Abbruch zu tun, weil, trotz der umfassenden Neutralisation aller Choleragifte durch das Torantitoxin, den eigentlichen Choleravibrionen, insbesondere von *Kraus* selbst, die Bildung solcher Gifte abgesprochen wurde. *Kolle* und *Schürmann* (*Kolle* und *Wassermann*, Handbuch IV, S. 50) stehen auf dem Standpunkt, daß stärkere Hämolysinbildung bei echten Choleravibrionen zwar vorkomme, aber eine „Abweichung von der Norm“ bedeute.

Huntemüller hat dann den Nachweis geführt, daß viele Cholerastämme, durchaus nicht nur die sog. El-Torvibrionen, solche Hämolysine und, bei stärkerer Ausprägung der hämolytischen Kraft auch akut wirkendes Gift zu bilden imstande sind.

In Ergänzung dieses Ergebnisses konnte ich bei Untersuchung von 32 in Ägypten von mir gezüchteten Cholerakulturen feststellen, *daß alle frischen Cholerastämme Hämolysinbildner sind*, diese Eigenschaft aber in der Kulturhaltung meistens bald mehr oder weniger vollständig einbüßen.



Dabei ist allerdings im Auge zu behalten, daß extreme Giftbildner verhältnismäßig selten sind; doch kamen neben den Torstämmen eine ganze Reihe anderer, ägyptischer, russischer (insbesondere die Bakustämme) und ostpreußischer Stämme (1905) zur Beobachtung, welche jenen an Giftbildungsvermögen durchaus gleichstehen.

Diese Tatsachen legen die Annahme nahe, daß es sich mit der Giftbildung bei den Choleravibrionen ähnlich verhalte wie bei den Diphtheriebacillen und anderen Toxinbildnern, unter welchen starke Giftbildner verhältnismäßig selten gefunden werden und einen Anhaltspunkt für die Schwere des jeweiligen Krankheitsfalles, bei welchem sie zur Züchtung kamen, nicht geben, ohne daß man an der Bedeutung der Gifte für die betreffende Gruppe von Erregern und für die Pathogenese der durch sie erzeugten Krankheit zweifelte. Zur Erzeugung antitoxischer Sera eignen sich aber erfahrungsgemäß nur starke Giftbildner.

Choleratoxin, d. h. Bouillonkultur oder abgeschwemmte Agarrasen, durch Phenol abgetötet, lassen sich durch Antiserum nach dem Gesetze der multiplen Proportionen neutralisieren (*Kraus*, *Huntemüller*). Der Hämolysinbindungsversuch geht dabei dem Tierversuch, bei intravenöser Einspritzung eben neutraler Gemische, parallel. Bei der verhältnismäßigen Größe der eben tödlichen Menge des Choleragiftes für die üblichen kleinen Versuchstiere (für Meerschweinchen von 250 g etwa 0,4—0,2, für Kaninchen von 1000 g 0,5—0,3 Toxin) sind der Titration, zumal phenolhaltiger Gifte, natürlich ziemlich enge Grenzen gesetzt (bis zur siebenfach-tödlichen Dosis).

Die Vibrionentoxine sind nun bekanntlich außerordentlich labil; schon bei 37° gehen sie für Tierversuche in 24 Stunden fast völlig zu Verlust. Selbst Spuren sind nach einigen Tagen bis Wochen im Hämolysinversuch nicht mehr nachzuweisen.

Frische, stark giftige Abschwemmung lebender Kultur verhält sich ähnlich bei der Neutralisation. Natürlich sind die Grenzen bei weitem enger gezogen. Doch läßt sich mit antitoxischem Serum eine Menge lebender Vibrionen in der Meerschweinchenbauchhöhle vernichten, gegen welche bactericides Serum bei weitem nicht ausreicht (s. Tab. VI). Die Schutzgrenzen verschieben sich gegen den einfachen Toxinneutralisationsversuch dadurch, daß die Wachstumsenergie der Vibrionen zu einer derartigen Giftbildung über die bei Beginn des Versuches vorhandene Menge hinaus Anlaß gibt, daß auch große Antitoxindosen bald versagen.

Dafür, daß diese labilen Gifte von wesentlicher Bedeutung für die Virulenz der Choleravibrionen sein müssen, lassen sich verschiedene Erfahrungen beibringen:

1. Alle frischen Cholerastämme sind, wie schon erwähnt, Hämolysinbildner, verlieren diese Eigenschaft aber meistens in der Kulturhaltung

bald; nur wenige zeigen sie in hohem Maße und lassen sie bei geeigneten Passagen lange erhalten.

2. Die Cholera der jungen Kaninchen läßt sich nur mit toxischen Vibrionen hervorrufen und beruht auf einer Vergiftung vom Magen-Darmkanal aus. Sie gelingt nicht mit atoxischen Vibrionen; dagegen auch mit vorsichtig abgetöteten Kulturen toxischer Stämme (siehe auch Teil II, Einleitung).

3. Am Meerschweinchen geht im allgemeinen die Giftigkeit der Virulenz parallel, wobei in den geringeren Graden der Virulenz (1—2 Ösen) die hämolytische Eigenschaft nicht hervorzutreten braucht, vielmehr starken Schwankungen unterworfen ist, d. h. einmal verzögert auftritt, dann wieder fehlt (Blutplattenaussaat). Durch Nährbodenanpassung gelingt es, aus frischen hämolysinbildenden Stämmen allmählich solche abzuspalten, welche zwar nicht mehr Blut lösen, aber noch verhältnismäßig virulent und giftig sind; es sind dies die „trockenen" Formen, Varianten dem Nährboden angepaßter Vibrionen, welche nicht nur kulturell, sondern auch morphologisch und biologisch von den Ausgangsstämmen stark abweichen. (*Bernhard* und *Ornstein*: Über Variabilität pathogener Mikroorganismen. Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 1.)

Bei den extrem virulenten Stämmen aber ($^1/_{10}$—$^1/_{100}$ Öse) besteht immer starke Hämolysinbildung.

Im folgenden habe ich versucht, durch Prüfung von Seren, welche mit verschieden vorbehandelten Antigenen hergestellt wurden, Aufschluß über die Rolle der verschiedenen Immunitätsfunktionen bei der Cholera zu erhalten. Von besonderem Interesse konnte in diesem Zusammenhange der serologische Befund bei Fütterungsimmunität sein.

Es empfahl sich aus den oben angeführten Gründen, zur Herstellung der verschiedenen Antigene und zu Prüfzwecken einen stark giftbildenden Stamm heranzuziehen. Es diente hierzu ein vom Reichsgesundheitsamte überlassener Cholerastamm, Nr. 3, welcher bisher seit über zwei Jahren Virulenz und Giftbildung im wesentlichen beibehielt. Die Virulenz ließ sich leicht von $^1/_5$—$^1/_{10}$ Öse auf weniger als $^1/_{100}$ Öse für Meerschweinchen von 200—300 g steigern; 2—4 Ösen vorsichtig abgetöteter Kultur (Phenol) töteten sie mit Sicherheit bei i. p. Einverleibung.

Bei der Herstellung der Sera ging ich von folgenden Fragestellungen aus:

1. Läßt sich durch Trennung der löslichen Gifte von den Vibrionen eine Scheidung der antigenen Wirkungen erzielen?

2. Welche Veränderungen der antigenen Wirkung entstehen durch Autolyse der Vibrionen bei 37° oder durch Erhitzung des Giftes auf 60° für eine Stunde gegen das Ausgangsmaterial?

3. Läßt sich durch Ausfällung mit einem agglutinierenden bzw. bakteriolytischen (aber nur Spuren von Tropin- und Antitoxinwirkung



entfaltenden) Serum die Trennung einer bakterio-lysinogenen Substanz von einer tropinogenen und antitoxinogenen erzielen?

4. Wie ist serologisch die Fütterungsimmunität gekennzeichnet?

Die letzte Frage ist im zweiten Abschnitt dieser Arbeit für sich behandelt; zur Beantwortung der ersten drei Fragen sollen die nachstehenden Immunisierungsversuche an den entsprechenden drei Gruppen von Versuchstieren dienen.

Als Antigene sind zum Teil zur Erzeugung der in folgendem untersuchten Sera, zum Teil für die Serumprüfungen verwendet worden:

1. Frische Abschwemmung zwanzigstündiger Agarkulturen mit Bouillon oder Kochsalzlösung, nach Bedarf mit Phenol oder durch Erhitzen auf 60° für 1 Stunde konserviert; daneben Filtrate durch Tonkerzen und der wässerige Rückstand eines Chloroformätherextraktes.

2. Bouillongifte von fünftägigem Wachstum, durch Phenol konserviert; roh oder durch Tonkerzen filtriert; beide auf Eis aufbewahrt oder bis zum Verschwinden des Hämolysins bei 37° gehalten.

3. Dialysierte oder mit agglutinierendem Serum ausgefällte Bouillongifte.

Die allgemeinen Eigenschaften dieser verschiedenen Gifte stellen sich folgendermaßen dar:

Die Giftigkeit verschwindet mit der *Autolyse* bei 37° in wenigen Tagen restlos, so daß man ein Vielfaches der tödlichen Dosis Versuchstieren ohne Schaden einspritzen kann; die letzten Reste des Hämolysins nach einigen Wochen.

Erhitzung auf 60° für 1 Stunde vermindert die Giftigkeit erheblich, aber keineswegs vollständig. Offenbar erleidet das Gift starke Veränderungen, wovon später noch die Rede sein wird. Das Hämolysin ist verschwunden.

Filtration schwächt in den ersten Portionen das Gift stark ab. Setzt man sie aber lange genug fort, so erhält man fast quantitative Ausbeute; Filtrate scheinen aber nicht sehr haltbar zu sein.

Alle Rohgifte lassen sich durch agglutinierendes Serum klären, ohne an antigener Fähigkeit oder an Giftigkeit (Hämolysin) wesentlich einzubüßen.

Dialysate klären sich, ohne an Reaktionsfähigkeit wesentlich herabgesetzt zu werden, schnell von selbst, in dem sich am Boden das Gift als kleinflockiger Niederschlag abscheidet. Um sie zur Reaktion zu bringen, müssen sie mit Kochsalz wieder angesalzen werden.

Zu erwähnen ist noch ein eigentümliches Verhalten der verschiedenen Antigene: Toxische sind von viscöser Beschaffenheit; damit erzeugter Schaum hält sich ziemlich lange. Atoxische Autolysate oder 60°-Gifte sind dünnflüssig und lassen den Schaum schnell verschwinden.

Im folgenden sind die geprüften Sera kurz aufgeführt und die verwendeten Antigene beschrieben.



Die Bacillenaufschwemmungen und Antigenverdünnungen wurden so gewählt, daß innerhalb der einzelnen Gruppen bei der Dosierung möglichst vergleichbare Mengen zur Injektion kamen; von toxischen Antigenen wurden immer bedeutend geringere Mengen eingespritzt, als von den Bacillenleibern, Autolysaten und Präcipitaten; die Einspritzungen, im ganzen 3—4 i. v., in den üblichen Abständen von 5—7 Tagen wiederholt, und, nach einer erfolgreichen Vorprüfung, acht Tage nach der letzten Injektion den Tieren Blut zur Prüfung entnommen. Nur die Meerschweinchensera wurden durch i. p. Injektion erzielt.

Gruppe 1. Umfaßt die Sera 2854, 2853, 2855. Frische 20stündige Rasen auf Kolleschalen wurden mit je 10,0 physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, sogleich zentrifugiert und durch Tonkerze filtriert; das mit Phenol versetzte bakterienfreie, klare, toxische Filtrat diente zur Herstellung des *Kaninchenserums 2854.*

Der Zentrifugatrückstand, d. h. die Bacillenleiber wurden mehrfach mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und, mit Phenolkochsalzlösung aufgeschwemmt, zur Herstellung von *Kaninchenserum 2853* benutzt.

Ein anderer gleicher Rückstand wurde mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit Äther über Nacht geschüttelt, mit Chloroformäther zwei Tage lang extrahiert, und die im Scheidetrichter absitzende trübe, wässerige Flüssigkeit zur Herstellung des *Kaninchenserums 2855* verwendet.

Zu *Gruppe 2* gehören die Sera A [2. IV.], (B_1 B_2 B_3), 1. [9. IV.] von Meerschweinchen, sowie Kaninchenserum [26. IV.] und 376:

Serum A [2. IV.] wurde mit einem stark wirksamen Bouillongift hergestellt, von welchem die i. p. tödliche Dosis für Meerschweinchen von 250 g zwischen 0,5 und 0,2 lag (0,5 tötete in wenigen Stunden).

(Die Sera B_1 bis B_2, welche in den Tabellen weiter nicht aufgeführt sind, waren mit dem gleichen, aber wenige Tage bei 37° autolysierten Gifte hergestellt worden und zeigten, außer einer mäßigen Agglutination bis 0,003, noch Hemmung der Hämolyse, also antitoxische Funktion; obwohl 5,0 des Giftes i. p. Meerschweinchen nicht mehr tötete. Es genügen demnach Spuren von Hämolysin in den Giften, um noch Antitoxin zu erzeugen.)

Serum 1, [9. IV.] stammt von einem Meerschweinchen, welches mit einer eine Stunde lang bei 60° erhitzten Vibrionenabschwemmung vorbehandelt worden war. Die tödliche Dosis des Giftes lag zwischen 1,0 und 0,5 für Meerschweinchen von 250 g; die des nativen Giftes zwischen 0,5 und 0,2 (1,0 entspricht dem zehnten Teile einer dichtbewachsenen Kolleschale, mit 10,0 physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt).

Kaninchenserum (26. IV.) war mit einem bei 37° völlig unwirksam gewordenen Bouillonfiltrat, welches keine Spur von Hämolyse mehr zeigte, erzeugt worden.

Kaninchenserum 376 mit dem gleichen Bouillongift, welches zur Immunisierung des Meerschweinchen A gedient hatte; dieses stark wirksame Toxin war jedoch vorher hochgespanntem elektrischen Strome ausgesetzt worden und war völlig ungiftig geworden, zeigte auch keine Hämolyse mehr.

Gruppe 3 umfaßt zwei *Kaninchensera*: *Das antitoxische* (Kan. 14. VI.) war mit einem starken Bouillongift hergestellt worden, nachdem es durch Serum 376 (im Verhältnis 1 : 80) geklärt worden war; der mehrfach gewaschene Niederschlag wurde in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und war das Antigen für *das agglutinierende* Kaninchenserum.



Als Kontrolle diente das *antitoxische Pferdeserum* (30. X. 1911) von einem mit Choleratoxin durch *Huntemüller* im Institut vorbehandelten Tiere. Dieses Tier war lange Zeit hindurch ziemlich regelmäßig mit großen Dosen eines Bouillongiftes des Stammes Cholera 70 (Ostpreußen) behandelt worden, welcher in allen wesentlichen Eigenschaften mit dem Stamme 3 und anderen guten Giftbildnern übereinstimmte.

Gelegentlich wurde noch ein *Serum Ch. 8* herangezogen, welches mit einem Bouillongift eines gelegentlich schwach blutlösenden Stammes (Virulenz 1—2 Ösen) erzeugt worden war, welcher mit der Zeit gar nicht mehr Blut löste und weiterhin auch an Virulenz abnahm.

Daneben ein *altes bactericides Serum* vom VII. 1912, welches seinerzeit den Titer 1 : 5000 gehabt hatte.

Die beiden letzten Sera sind zu vergleichenden bactericiden Platten- und zu Komplementbindungsversuchen herangezogen, welche die in Tabelle III angeführten bestätigen und deshalb nicht mitgeteilt sind. Die *Tabellen* sind im wesentlichen *gruppenweise* angeführt. *Einzelne Sera* greifen *als Kontrollen* vergleichsweise auf die anderen Gruppen über; insbesondere das alte Pferdeserum X. 1911 (*Huntemüller*).

Die *Technik* der einzelnen Versuche weicht nirgends von *der üblichen Methodik* ab:

Die *Agglutinationen* wurden mit Serumverdünnungen zu 1,0, enthaltend eine Öse Bacillen, vorgenommen und, nach einstündigem Aufenthalt der Gemische bei 37°, makroskopisch bis zur Sichtbarkeitsgrenze (Lupe) bestimmt. Dem Grade der Flockung von völliger Präcipitation bis zur eben deutlichen Verklebung entsprechen die vermerkten Zeichen (++++ — $\pm$).

Bei den *bactericiden Plattenversuchen* wurden zu 1,0 der entsprechenden Serumverdünnung 0,01 einer 20stündigen Bouillonkultur in 1,0 Bouillonkochsalzlösung und 1,0 eines 20fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten frischen Meerschweinchenserums gemischt; nach $^5/_4$—$1^1/_2$stündigem Aufenthalte bei 37° wurden 0,5 ccm der Gemische zu Platten verarbeitet und nach 24stündigem Aufenthalt bei 37°, dann bei Zimmertemperatur für zwei Tage, das Wachstum in den Reihen vergleichend abgelesen; unter entsprechendem Ansatze der Serum-, Einsaat- und Komplementkontrollen. Wo der Plattenversuch fehlt, ist er entweder charakteristisch in anderen Gruppen vertreten oder, wie bei den Meerschweinchenseren A (2. IV.) und 1. (9. IV.), mißlungen und konnte mangels Serum nicht wieder angestellt werden; doch sind die Ergebnisse der Schutzprüfung bei den Spendern dieser Sera und der in der gleichen Tabelle aufgeführten Seren charakteristisch genug (Tabelle IV).

Die *Komplementbindung* wurde nach Ermittelung der geeigneten Extraktdosis, mit fallenden Serummengen vorgenommen, unter Ansatz von Serum- und Extraktkontrollen. Als Extrakte dienten alte Gifte und Autolysate (37°), auch Dialysate.

Die *Hämolysin-Neutralisationsversuche* wurden mit fallenden Mengen Serums und gleichen Mengen wirksamer Toxine (auch Filtrate) angesetzt,



zu denen 1,0 einer 2,5 proz. Aufschwemmung gewaschener Hammelblutkörperchen (Brei nach Abheben des Zentrifugats) und auf 2,5 ccm Kochsalzlösung hinzugefügt wurden. Nach 1 stündigem Aufenthalte im Brutschranke wurden die Gemische bei Zimmertemperatur belassen und nach Absitzen der ungelösten Blutkörperchen abgelesen.

Tabelle I.

Kaninchensera der Gruppe 1 im

Agglutinationsversuch.

Serum	0,02	0,006	0,002	0,0006	0,0002
2854	+++	+++	++	±	+
2853	+++	+++	+++	+	±
2855	+++	++	±	−	−

Hämolysinbindungsversuch.

Serum	0,2	0,1	0,05	0,025
2854	Hemmung der Lyse	Hemmung	fast komplette Hemmung	komplette Lyse
2853	fast komplette Lyse	fast komplette Lyse	komplette Lyse	komplette Lyse
2855	komplette Lyse	komplette Lyse	komplette Lyse	komplette Lyse

Tropinversuch.

Serum	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003
2854	sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	starke Phagocytose	mäßige Phagocytose	keine Phagocytose
2853	starke Phagocytose	starke Phagocytose	mäßige Phagocytose	Spur Phagocytose	keine Phagocytose
2855	starke Phagocytose	mäßige Phagocytose	mäßige Phagocytose	keine Phagocytose	keine Phagocytose

Tabelle II.

Sera der Gruppe 2 im

Agglutinationsversuch.

Serum	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001
Meerschweinchen A [2. IV.]	+	±	±	−	−		
Meerschweinchen 1 [9. IV.]	++	++	++	++	±		
Kaninchen [26. IV.].			++++	+++	+	±	−
„ 376. . .			++++	+++	+++	+	−
„ 2853 . .			+++	++	+	−	−
„ 2854 . .			+++	+	−	−	−
Pferd Wallach X. 11	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+



Tabelle II (Fortsetzung).
Bactericider Plattenversuch.

Serum	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001
Kaninchen [26. IV.]	—	—	—	+++	+++
„ 376 . .	—	—	—	+++	+++
„ 2853 .	—	—	—	++	+++
„ 2854 .	++++	+++—++++	++++	++++	++
Pferd Wallach X.11	++—+++	—	+++	++++	++++

Tropinversuch.

Serum	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0001
Meerschweinchen A [2. IV.] . . .	++++	+++	++	+	±	—
Meerschweinchen 1 [9. IV.]	+	+	±	—	—	—
Kaninchen 26. IV.	++++	+++	±	—	—	—
„ 376 . .	++	±	—	—	—	—
„ 2854 .	++++	++++	+++	+	+	· —
Pferd Wallach X.11			++++	++++	++++	+++

Wie die beigegebenen Tabellen I—III zeigen, geben alle Antigene agglutinierende Sera; Filtrate und ausgefällte Bouillongifte etwas geringeren Titres als Rohgifte oder Bacillenrückstände und Niederschläge.

Nur bei intraperitonealer Vorbehandlung von Meerschweinchen ergaben sich mit Autolysaten geringe Agglutinationstitres, mit einem Rohgift ein ganz niedriger.

Der bakteriolytische Titer im Plattenversuch zeigte sich außerordentlich ungleichmäßig, soweit aber verwertbare Versuchsreihen vorliegen, durchaus charakteristisch: bei den mit nativem Rohgift hergestellten Seren mit Hemmungszonen um ein lytisches Optimum herum, bis zu völliger Hemmung; im Gegensatz zu solchen, welche mit wärmeverändertem Antigen hergestellt waren und breite lytische Zonen aufweisen.

Dem bakteriolytischen Titer der Sera entspricht das Verhalten im Komplementbindungsversuch: Der lytischen Zone entspricht die Bindungsbreite, welche bei schwacher Lyse fast fehlen kann, bei starker sich noch in hohen Verdünnungen des Serums zeigt.

Das alte Pferdeserum (X. 11) gab nur Spuren von Komplementbindung. Es hatte nach über 9 Jahren noch den höchsten agglutinatorischen, tropischen und antitoxischen Titer, wirkte aber im bactericiden Plattenversuche meistens schlecht, im *Pfeiffer*schen Versuche nach dem Mechanismus der Phagocytose, vor einer außerordentlich langsamen Bakteriolyse.



Tabelle III.

Sera der Gruppe 3 im

Serum	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001	0,00003	0,00001
				Agglutinationsversuche.					
Pferd Wallach X 11	++++	++++	++++	++++	+++	++	+	—	
Antit. Kan. [19 VI]	++++	++++	++++	+++	+	—	—	—	
Aggl. Kan. [19 VI].	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	—	
				Batcericiden Plattenversuche.					
Pferd Wallach . . .	++	+	+++	++	+	+++	+++	++++	++++
Ant. Kan.	++++	++++	±	±	±	±	+++	++++	++++
Aggl. Kan.	++++	±	±	±	—	±	++	+++	++
				Komplementbindungsversuche.					
	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001			
Pferd Wallach . . .	Lyse	Lyse	Lyse	Lyse	Lyse	Lyse			
Ant. Kan.	komplette Hemmung	komplette Hemmung	fast kompl. Hemmung	fast kompl. Hemmung	Lyse	Lyse			
Aggl. Kan.	komplette Hemmung	komplette Hemmung	komplette Hemmung	fast kompl. Hemmung	fast kompl. Hemmung	starke Hemmung			
				Hämolysinbindungsversuche.					
Pferd Wallach. . .	komplette Hemmung	komplette Hemmung	komplette Hemmung	fast kompl. Lyse					
Ant. Kan.	komplette Hemmung	komplette Hemmung	fast kompl. Hemmung	komplette Lyse					
Aggl. Kan.	fast kompl. Lyse	komplette Lyse	komplette Lyse	komplette Lyse					
				Tropinversuche.					
Pferd Wallach . . .			sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	schwache Phagocytose			
Ant. Kan.	sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	sehr starke Phagocytose	mäßige Phagocytose	keine Phagocytose			
Aggl. Kan.	sehr starke Phagocytose	starke Phagocytose	mäßige Phagocytose	ganz schw. Phagocytose	keine Phagocytose	keine Phagocytose			

Aber auch hochwirksames, frisches Antitoxin von mäßigem Plattentiter zeigte im Schutzversuche Phagocytose, daneben kaum Granulabildung. Die bakteriolytische Quote tritt um so reiner in Erscheinung, je geringer der tropische und antitoxische Titer der Sera ist.

Einen entscheidenden Unterschied weisen die verschiedenen Antigene denn auch in ihrer serologischen Auswirkung auf, je nachdem es sich um native, schonend abgetötete oder um wärmeveränderte, bei Bruttemperatur autolysierte bzw. auf 60° erhitzte Gifte handelt.

Wie die Giftigkeit mit der Autolyse allmählich völlig verschwindet, so bleiben nach Vorbehandlung mit solchen Antigenen im Antiserum die tropische und antitoxische Quote entsprechend zurück. Wo auch nur Spuren von Hämolyse im Tierversuche nicht mehr nachweisbare Reste von Toxin andeuten, enthält das Serum der damit vorbehandelten Tiere auch noch Antitoxine und Tropine. Diese beiden Funktionen, welche wesentlich die erworbene Immunität kennzeichnen, müssen im engsten Zusammenhange mit dem nativen Gifte als Antigen stehen.

Durch Erhitzen auf 60° erhaltene Gifte sind zwar im Gegensatz zu Autolysaten noch giftig, heben sich aber in antigener Hinsicht noch schärfer von den nativen Giften ab als diese; sie erzeugen nur Spuren von Tropinen. Offenbar ist das Gift durch die Erhitzung tiefgreifend verändert.

Es ist von vornherein zu erwarten, daß Lyse und Phagocytose im *Pfeiffer*schen Versuche nebeneinander in Erscheinung treten werden, zugleich auch, daß die nicht zu übersehenden Verteilungsverhältnisse in der Bauchhöhle des Meerschweinchens bei passiven Schutzversuchen von den Plattenversuchen mehr oder weniger abweichende Verhältnisse zeitigen werden; trotzdem sind diese im wesentlichen analog, und man kann aus den Eigenschaften eines Serums ziemlich genau voraussagen, ob man eher Phagocytose oder Bakteriolyse erwarten kann. (Siehe Tabelle IV.)

Sera ohne wesentlichen tropischen Titer zeigen das übliche *Pfeiffer*sche Phänomen; überschreitet man die Gebrauchsdosis von einer Öse, so reicht bactericides Serum zum Schutze nicht mehr aus, und trotz reichlicher Granulabildung gehen die Tiere zugrunde; indem nicht aufgelöste Keime oder beim Zerfall von Leukocyten freiwerdende Vibrionen die weitere Vermehrung und Giftbildung gewährleisten. Es wird hierauf bei der Fütterungsimmunität noch zurückzukommen sein.

Bei besonders giftigen Stämmen genügt schon die Abschwemmung der Kultur, wobei die löslichen Gifte mit aufgenommen werden, um zu demonstrieren, daß ein Schutz nur mit antitoxischem Serum, nicht mit bactericidem, zu erzielen ist.

Bei hochtropischen Seren erleidet das *Pfeiffer*sche Phänomen eine gegen den gewöhnlichen Verlauf in die Augen springende Veränderung,

Tabelle IV.

Schutzversuch an aktiv i. p. vorbehandelten Meerschweinchen.

Meer-schw.	Vorbehandelt mit	i. p. injiziert	Exsudatbild nach			Verlauf und Ausgang
			20 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	
1	Phenolisiertem Rohtoxin Ch. 3 (s. Gruppe 2. A [2 IV]).	Drei Wochen nach der letzten Einspritzung 2½ Ösen Ch. 3 vir.		Massenhaft Granula, aber noch mehr wohlerhaltene Vibrionen; Leukocyten kaum vermehrt, z. T. mit Granula vollgestopft.		Starke Schockwirkung nach der i. p. Injektion, am nächsten Tag munter, überlebt.
2	Auf 60° erhitzter Bacillenabschwemmung Ch. 3. (s. Gruppe 2. 1, [9 IV].)	dgl.		Fast nur noch Granula, vereinzelte erhaltene freie Vibrionen, mehr Leukocyten als beim vorigen Tiere, die z.T. randständig Kügelchen aufweisen; die Phagocyten hauptsächlich mononucl.		Zunächst keine starke Giftwirkung nach der Injektion, am nächsten Tage schwer krank. † nach 30 Std.
3	Phenolisierter Kulturabschwemmung (Ch. 3.) 0,2 $^{1}/_{50}$ Kolleschale	Zwei Wochen nach der letzten Einspritzung 1 Öse Ch. 3 vir.	Viele Vibrionen, viele Granula; reichlich Leukocyten, welche gefressen haben.	Keine Vibrionen mehr; nur noch wenige Granula. Massenhaft Leukocyten; die meisten, wie gebläht, mit Kügelchen vollgestopft.	Keine Granula mehr; massenhaft Leukocyten, z. T. in Haufen, mit Granula vollgepfropft.	Überlebt.
4	Auf 60° erhitzter Bacillenabschwemmung (Ch. 3) 0,3 = $^{3}/_{100}$ Kolleschale	Über 3 Monate nach der letzten Einspritzung 1 Öse Ch. 3 vir.	Mäßig viele Vibrionen, massenhaft Granula, keine Leukocyten.	Nur noch Granula, viele Leukocyten, teilweise in Haufen; z. T. mit Kügelchen, zum größeren aber mit Vibrionen angefüllt.	Massenhaft Leukocyten, z. T. in großen Haufen; mit Vibrionen und Granula angefüllt.	Überlebt.
5	Phenolisierter Bacillenabschwemmung eines avirulenten Stammes Lindner 0,2.	Zwei Wochen nach der letzten Einspritzung 1 Öse Ch. 3 vir.	Keine Vibrionen mehr, nur noch wenige Granula; keine Leukocyten.	Vereinzelte Granula, wenige Leukocyten, einige haben Vibrionen aufgenommen, ohne sie aufzulösen.	Vereinzelte Granula; mäßig viele Leukocyten; einige mit Vibrionen, einige mit Granula angefüllt.	Überlebt.
6	dgl. 0,4 (1,0 = $^{1}/_{10}$ Kolleschale tötet Kontrolle nicht).	dgl.	Keine Vibrionen mehr; nur noch wenige Granula keine Leukocyten.	Vereinzelte Granula, viele Leukocyten; einige mit Kügelchen, andere noch unaufgelösten Vibrionen.	Noch Granula; viele Leukocyten, zum großen Teil mit Kügelchen, z. T. mit Vibrionen.	Überlebt.

Tiere 1 bis 2 und 3 u. 6 sind zwei Gruppen, deren jede am gleichen Tage und zu gleicher Zeit zur Nachprüfung kamen.

indem neben der Bakteriolyse sich eine außerordentliche Leukocytose und Phagocytose entwickelt. Diese kann in wenigen Minuten die Vibrionen aus dem Exsudat beseitigen bis auf wenige Keime, welche verspätet in Granula umgewandelt und allmählich gelöst werden. (Versuche mit altem Pferdeserum.) (Tab. V.)

Gewöhnlich aber verläuft der Prozeß in der Weise, daß statt einer rapiden Einschmelzung der Vibrionen (Körnchen), welche in 10 Minuten bis zu einer Viertelstunde abgeschlossen zu sein pflegt, ein wesentlicher Zerfall um diese Zeit noch nicht im Gange ist, vielmehr noch nach 1 Stunde wohlerhaltene Vibrionen in geringerer oder größerer Zahl im Exsudate vorhanden sind, die bis dahin der Phagocytose, welche sofort einsetzte, entgangen sind. (Tab. VI.)

Bei aktivem und passivem antitoxischen Schutze zeigen sich die Versuchstiere, wie aus den angeführten Versuchen hervorgeht, bedeutend resistenter als bei rein bakteriolytischem; bei ausreichendem passivem Schutze, ohne eine Spur von Vergiftung merken zu lassen. (Siehe Tabelle VI, Tier 1.)

Zu den Komplementbindungsversuchen ist zu bemerken, daß sie nicht mit lebenden Vibrionen angesetzt wurden, da die gleichzeitige Unterbrechung der Vermehrung der Keime während des länger dauernden Versuches durch die einsetzende Bactericidie zu unübersehbaren Verhältnissen hinsichtlich der Bindung führen.

Es wurden native und autolysierte Gifte, auch ein auf gleiche Weise gewonnenes Antigen eines schwach virulenten Stammes Ch. 8 als Extrakte verwendet. Es hat sich herausgestellt, daß das Ergebnis immer das gleiche war; der Titer des jeweils untersuchten Serums bleibt gegen die verschiedenen Antigene der gleiche, nur bei Dialysaten ist er im ganzen etwas geringer. Die komplementbindenden Antikörper für Choleravibrionen entstehen also nicht nur unter der Einwirkung erhitzter Antigene, sondern reagieren auch mit diesen wie mit nativem Antigen.

Hiernach wirken mit wärmeveränderten Antigenen hergestellte bactericide Sera, bei breiter lytischer Zone im Glasversuche, im Tierversuche durch Bakteriolyse, mit nativem Antigen erzeugte überwiegend tropische und antitoxische Sera dagegen, bei engster lytischer Zone im Glasversuche, im Tierversuche durch Phagocytose.

Daß überhaupt Lysin- und Tropingehalt nicht immer parallel gehen, haben *Neufeld* und *Hüne* speziell für Typhus nachgewiesen. Sie schreiben:

„Im allgemeinen wirken Sera von Typhuskranken, welche sich im Beginne oder auf der Höhe der Erkrankung befinden, im Plattenversuche verhältnismäßig stark, im Tierversuche gering, während die Sera von Rekonvaleszenten sowie von hochimmunisierten Tieren das umgekehrte Verhalten zeigen“; . . .





Tabelle V.

Pfeifferscher Versuch mit antitoxischem Pferdeserum Wallach [X 11] und dem agglutinierenden Kaninchenserum [14 VI]. Je eine Öse Ch. 3 mit 0,01 des betreffenden Serums Meerschweinchen von 250—300 i. p. injiziert. Beobachtung des Exsudats nach:

Serum	5 Minuten	20 Minuten	60 Minuten	Ausgang
Pferd Wallach 0,01	Viele Vibrionen, z. T. in agglutinierten Haufen; keine Granula; starke Leukocytose und Phagocytose der um die Zellen gelagerten Haufen.	Wenige Leukocyten mit Granula; einige freie Granula.	Reichlich Leukocyten mit Granula.	Überlebt*).
Pferd Wallach 0,002	Massenhaft Vibrionen meist in agglutinierten Haufen; am Rande viele einzelne. Keine Granula. Starke Leukocytenansammlung; z. T. in großen Haufen. Bakterienhaufen an den L. angelagert. Nach 10′ sind die um die L. lagernden Vibrionenhaufen phagocytiert.	Wenige Leukocyten. z. T. mit Granula; einige freie Granula.	Reichlich Leukocyten mit Granula.	Überlebt.
Aggl. Kan. 0,01		Keine Vibrionen; sehr zahlreiche Granula; ganz vereinzelte Leukocyten.	Noch Granula; enorme Leukocytose. Leukocyten prall mit Vibrionen und Granula vollgepfropft.	Überlebt.

Tabelle VI.

Vergleichender Schutzversuch mit antitoxischem Kaninchenserum [14 VI] und Serum 376. Je 5 Ösen abgeschwemmter Ch. 3 Kultur (Virulenz $^1/_5$ Öse); zum Vergleich auch einmal Ch. 8 Kultur (Virulenz 2—1 Ösen) herangezogen; Meerschweinchen i. p.

Serum	Exsudat nach		Ausgang
	5—10 Minuten	60 Minuten	
St. Ch. 8. } Antitoxisches Kan.-Serum 0.5	Massenhaft Vibrionen, starke Leukocytose (Haufen!), starke Phagocytose; kaum Granulabildung. In gefärbten Präparaten das gleiche Bild.	Massenhaft Granulahaufen agglutiniert; enorme Leukocytose; Leukocyten in großen Haufen liegend, gebläht von Granula. Im gefärbten Präparat in den gut erhaltenen Leukocyten nur Granula; einzelne freie Vibrionen und -Haufen.	Lebt munter ohne ersichtliche Giftwirkung.
St. Ch. 8. } Antitoxisches Kan.-Serum 0.5	Nur noch Granula; keine Leukocyten. In gefärbten Präparaten dgl.	Massenhaft Granula; mäßige Leukocytose und Phagocytose. Nach Färbung in den Leukocyten nur Granula; draußen Granulahaufen.	Lebt munter.
0,5 Serum 376 mit Stamm Ch. 8.	Sehr starke Granulabildung; aber auch noch viele erhaltene Vibrionen; wenige Leukocyten mit Vibrionen und Granula.	Fast nur noch Granula und Haufen von Granula; vereinzelte freie V. Wenige Leukocyten, im Zerfalle, neben Granula. Züge von distinkt färbbaren, wohlerhaltenen Vibrionen abgebend.	Tier sitzt schwer krank. Nach 3 Tagen †.**)

*) Gefärbte Präparate bestätigen das Bild im hängenden Tropfen! Schöne Bilder der Aufnahme von Vibrionen in die Leukocyten, polynucleäre und mononucleäre. In 15 Minuten ist die Granulabildung im Zelleibe beendet. — In Ausstrichen des nach 5 Minuten entnommenen Exsudats sind nach 15 bzw. 25 Minuten seit Beginn des Versuches, die freien Vibrionen noch intakt; Granulabildung noch nicht zu sehen!

**) *Bakteriologischer Befund*: Vibrionen in Herzblut, Milz, Peritoneum mäßig im Darme sehr zahlreich.



„Bei unseren Untersuchungen hat sich nämlich ergeben, daß Immunsera der erwähnten Art, die im Reagensglase gar nicht oder nur relativ schwach bactericid wirken, dafür eine andere spezifische Eigenschaft besitzen, nämlich die, sowohl im Reagensglase wie im Tierkörper eine sehr starke Phagocytose hervorzurufen, die auf dem Gehalte des Serums an bakteriotroper Substanz beruht. Umgekehrt fanden wir bei Untersuchung einiger Sera von Typhuskranken, welche im Plattenversuche verhältnismäßig stark abtötend wirkten, im Tierversuche aber geringe Schutzkraft hatten, daß diese Sera entweder gar keine bakteriotropen Stoffe oder nur minimale Mengen davon enthielten."

Aus dem zeitlichen Auftreten der Lysine vor den Tropinen, vor allem aus dem stärkeren Schutzwerte der tropisch-antitoxischen Sera, ist der Schluß naheliegend, die bakteriolytische Funktion als vorübergehende, frühe Phase der Immunität aufzufassen.

II. Fütterungsimmunität.

Versuche, durch Fütterung mit Erregern von Darmkrankheiten Immunität zu erzeugen, sind in der Literatur mehrfach verzeichnet; insbesondere seit *Löfflers* Mitteilungen über die Immunisierung gegen Bac. typhi mur. bei Mäusen.

Löffler gelang es, nach vielen vergeblichen Versuchen, in einer kleinen Reihe von Mäusen, welche mehrere Wochen fast täglich mit großen Mengen abgetöteter (60°) Mäusetyphusbacillenkultur gefüttert worden waren, zwei der Tiere gegen nachfolgende Fütterung mit lebenden Stämmen fest zu machen. $2^1/_2$ Wochen nach der letzten Vorbehandlung erlagen diese aber einer erneuten Fütterung zugleich mit den Kontrollen. Das Serum der geschützten Tiere agglutinierte die Bacillen nicht, wie *Löffler* angibt; die Tiere zeigten sich nur wenige Tage nach Abschluß der Vorbehandlung geschützt, so daß es fraglich bleibt, ob die Infektion bei ihnen nicht nur einen verzögerten Verlauf angenommen hatte.

Ähnliche Schutzwirkungen wie *Kutscher* und *Meinicke* bei Meerschweinchen haben *Wolf* und *Yoshida* gegen Mäusetyphusbacillen durch Vorbehandlung mit den diesen nahestehenden Paratyphusbacillen bei Mäusen erzielt; desgleichen *Brückner* gegen i. p. Impfung mit Paratyphusbacillen. (Literatur: *Kolle-Wassermann* Bd. II, S. 136 u. f.; insbesondere bei *Brückner*, ebenfalls dort zitiert, die ältere Literatur.)

Steigerung des bakteriolytischen Titers nach Verfütterung von Vibrionen an Kaninchen erwähnt *Friedberger*.

Eigene Versuche ergaben, daß junge Kaninchen (600—800 g) bei Verfütterung verhältnismäßig geringer Mengen von virulenten, giftbildenden Choleravibrionen (Stamm 70.), etwa $^1/_4$ Schrägkultur (abgeschwemmt), mit Sicherheit unter den Erscheinungen einer akuten Vergiftung und Allgemeininfektion, oft in wenigen Stunden erliegen.



Auch schonend durch Chloroformdämpfe abgetötete Kultur, in der die wirksamen Gifte erhalten sind, haben diese Wirkung.

Geringere Mengen mit der Öse abgenommener, lebender Kultur, töteten Versuchstiere in 4—23 Tagen; die Vibrionen waren im Dünndarm und im Coecum, und zwar in Reinkultur (nach 4 und 14 Tagen) noch aufzuweisen, nur vereinzelt in der Blutbahn des zuerst gestorbenen Tieres.

Atoxische Vibrionen haben diese Wirkung nicht.

Dieser Sachverhalt legte es besonders nahe, dem Gift der Choleravibrionen eine wesentliche Rolle bei der Infektion zuzuschreiben, wie ja die Erkrankung des Menschen zweifelsohne eine Vergiftung darstellt.

Antitoxisches Serum neutralisiert nun die fraglichen Gifte; das junge Kaninchen ist aber für den Nachweis seiner antiinfektiösen Wirkung aus verschiedenen Gründen kein günstiges Versuchstier, wenngleich bei einer Reihe von Tieren eine Verzögerung der Infektion bzw. Intoxikation oder völliger Schutz durch antitoxisches Serum ausgesprochen erschien.

Bei der Wirksamkeit des Giftes vom Magendarmkanal aus war anzunehmen, daß bei geeigneter Dosierung Immunität erzielt würde.

Ungermann teilte 1916 auf dem Kongreß für Innere Medizin in Warschau mit, daß er durch Verfütterung von Impfstoff an Meerschweinchen Schutz gegen eine für die Kontrollen tödliche Peritonealinfektion habe erzielen können. Mittels Plattenversuchs und in Stichproben auch des *Pfeiffer*schen Versuches konnten bei keinem der Tiere bactericide Stoffe des Serums nachgewiesen werden.

Eine Beobachtung des *Pfeiffer*schen Phänomens war nicht vorgenommen worden; eine Wiederholung des Versuches nicht gelungen (mündliche Mitteilung von *Ungermann*).

Im Anschluß an diese Tatsachen schien es nun wünschenswert, systematisch Versuche zur Fütterungsimmunität anzustellen. War doch zu erwarten, daß die Rolle des Toxins bei der Choleraimmunität auch durch eine Analyse des Serumschutzes gefütterter Tiere sich würde klären lassen.

Auf Grund der oben erwähnten Erfahrungen über die Fütterungsvergiftung junger Kaninchen war anzunehmen, daß ein Schutz am ehesten mit virulenten Stämmen zu erzielen sei, d. h. mit starken Giftbildnern, deren antigene Funktionen bei parenteraler Immunisierung im ersten Teile der Darstellung beschrieben wurden.

Meerschweinchen von 200—250 g wurden mit lebender Kultur meistens mit Stamm Ch. 3, in etwa 8tägigen Abständen, anfangs mit steigenden Mengen (von $^1/_{40}$ Kolleschale = $^1/_4$ Schrägagarkultur an), später von Anfang an mit großen Dosen ($^1/_4$—1 Kolleschale), gefüttert. Eine besondere Hungerperiode wurde nicht eingeschaltet. Die Tiere wurden mit der Pipette gefüttert und nahmen die Kultur gerne an.

Verluste durch Infektion traten in 2 Fällen unter 22 gefütterten Tieren ein und zeigen, daß Meerschweinchen per os durchaus nicht refraktär gegen Choleravibrioneninfektion sind.

Mit den so verschieden lange (bis zu 8 Fütterungen) vorbehandelten Tieren wurde nach Abschluß der Fütterung der *Pfeiffer*sche Versuch angestellt, nachdem ihm zum Teil vorher Blut zur Serumprüfung entnommen war. (Siehe Tabelle VII.)

Dieses Serum wurde auf Agglutinine und Lysine (Plattenversuch, in 2 Fällen im *Pfeiffer*schen Versuche), auf Tropin und Antitoxin geprüft. (Siehe Tabelle VIII.)

Wie die Tabellen über den Verlauf und Ausgang des *Pfeiffer*schen Versuches bei gefütterten Meerschweinchen zeigt, nimmt der Schutz gegen die Einverleibung virulenter Cholerakultur in die Bauchhöhle bei diesen Tieren zu mit der Dauer der Fütterung und mit der Menge der im ganzen verfütterten Kultur.

Bei einer vergleichenden Beobachtung des Verlaufes der Vorgänge in dem Exsudate dieser Tiere ist festzustellen, daß hier neben dem *Pfeiffer*schen Phänomen ein zweiter Mechanismus in Erscheinung tritt, und in den meisten Fällen im Vordergrunde steht, die Phagocytose.

Wenige Minuten nach Einverleibung der mehrfach tödlichen Dosis von Vibrionen, setzt eine lebhafte Leukocytose ein und beseitigt allmählich die Keime; bei vielen Tieren tritt daneben eine mehr oder weniger starke Körnchenbildung in Erscheinung; bei den meisten sind aber noch lange, bis über 1 Stunde hin Vibrionen sichtbar, welche bei anhaltend verstärkter Leukocytose durch Phagocytose beseitigt werden.

Diese Leukocytose und Phagocytose ist das wesentliche Merkmal der Fütterungsimmunität und entspricht dem Ablaufe des *Pfeiffer*schen Phänomens bei mit nativem Gifte vorbehandelten bzw. mit hochtropischen und -antitoxischen Seren passiv geschützten Tieren.

Bei den Tieren, welche nur schwache Phagocytose zeigen, sind die Zellen offenbar schwer geschädigt. Das Protoplasma zeigt Schrumpfung, die Kerne der Leukocyten bieten alle Übergänge der Degeneration bis zu völliger Pyknose und Zerfall dar. Offenbar haben nur die widerstandsfähigeren Zellen Vibrionen aufgenommen; aber auch diese sind, wie aus gefärbten Präparaten zu ersehen ist, oder, wenn man die Objektträger mit hängenden Tropfen länger beobachtet, nur einer frustanen intracellulären Bakteriolyse fähig. Während freie Vibrionen zuweilen nicht mehr im Exsudate zu sehen sind, bleiben in diesen Leukocyten noch scharf gefärbte Gruppen von Vibrionen sichtbar; aus anderen, zerfallenden sieht man, neben Massen schwach färbbarer Granula, Vibrionen in kleinen Zügen ausgetreten.

Nur mit nativem Gifte aktiv immunisierte Tiere bzw. deren Sera im passiven Schutzversuche zeigen Leukocytose und Phagocytose



Tabelle VII.

Vorbehandlung von Meerschweinchen durch Fütterung mit Choleravibrionen-Kultur und Verlauf des Schutzversuches. Die Schutzprüfung wurde eine Reihe von Tagen nach der letzten Fütterung durch peritoneale Einverleibung einer ganzen Öse virulenter Ch. 3 = Kultur vorgenommen. (III—VII erhalten nur $^{2}/_{5}$ Öse.) Zu jeder Gruppe gehörten Kontrollen der Virulenzprüfung.

Meerschw.	Zahl der Fütterungen Gesamtmenge verfütt. Kult.	Schutzversuch n. Tagen	Exsudatbild nach 20 Minuten	Exsudatbild nach 60 Minuten	Ausgang und Bemerkungen
I.	1 $6^{1}/_{2}$ Kulturen Ch. 3.	9			† in 24 Stunden.
II.	3 (2 K. Ch. 74) 1 Kultur Ch. 3.	10			† in 24 Stunden.
III.	8 $11^{1}/_{2}$ Kulturen Ch. 3.	17			† } In 4 Stund. Außerordentlich. Schock nach der Injektion.
IV.	3 $13^{1}/_{2}$ Kulturen Ch. 3.	17			† }
V.	4 $16^{1}/_{2}$ Kulturen Ch. 3.	18		Keine freien Vibrionen zu sehen; viele Granula; *starke Phagocytose.*	Überlebt.
VI.	7 (davon 8 mal mit schwachvirulenter Kultur) (1 K. Ch. 74) $14^{1}/_{2}$ K. Ch. 3.	17		Noch viele freie Vibrionen; viele Granula, *starke* Leukocytose u. *Phagocytose.*	† in 24 Stunden.
VII.	7 (davon 8 mal mit schwachvirulenter Kultur) ($^{3}/_{4}$ K. Ch. 74) $12^{1}/_{4}$ K. Ch. 3.	12	*Sofort* Vibrionen und Leukocyten! *Nach 20'* Vibrionen, Granula etwa z. dritten Teile. Leukocyten *vermehrt.* Die Mehrzahl ohne V.; *einige* stark *beladen.* *Nach 80'* dicke Eiterflecken. *Vibrionen* wesentlich (½) *weniger* als zuvor. Keine Granula, massenhaft *Leukocythen, die meisten in Phapcytose,* etwa $^{1}/_{3}$ enthält Vibrionen in Masse. *Nach 115'* Exsudat klarer; *weniger Leukocyten.* V. noch reichl. u. gut erhalt. Leukocyten mäßig zahlreich, die meisten in Phagocytose; einige recht stark.	*Nach 60'* Exsudat deutlich getrübt — Leukocytose! Vibrionen noch reichlich vorhanden, nicht wesentlich weniger als zuvor. *Massenhaft Leukocyten!* Etwa $^{1}/_{2}$ hat *phagocytiert,* etwa $^{1}/_{10}$ sehr reichlich.	† in 24 Stunden.
VIII.	7 (davon 3 mal mit schwachvirulenter Kultur) ($^{3}/_{4}$ K. Ch. 74) $11^{1}/_{4}$ K. Ch. 3.	7	Vibrionen, viele Granula.	Keine freien Vibrionen; wenig Granula; *Leukocytose. Zellen* mit Vibr. u. Granula vollgepropft.	Überlebt.
IX.	8 $10^{1}/_{2}$ Kulturen Ch. 3.	7	Vibrionen, fast nur Granula.	Keine freien Vibrionen, nur Granula zwischen mit Granula beladenen Leukocyten.	Überlebt.
X.	6 25 Kulturen Ch. 3.	7	*Sofort* zahlreiche Vibrionen, starke Granulabildung. Mäßige Leukocytose. *Fast alle L.* sind *beladen. Nach 30'* noch wohl erhalten, *freie V.,* auch Granula. *Viele Leukocyten,* in Haufen; der größte Teil m. V. beladen.	*Nach 120'* keine freien Vibrionen mehr! Viele *Leukocyten* in dichten *Haufen;* mit *Granula vollgepropft.*	Überlebt.

XI.	4 14 Kulturen Ch. 3.	7	*Sofort* viele freiliegende Vibrionen, wenig Gran. Starke *Leukocyten*; vielfach Haufen, z. T. die *Leukocyten mit Vibrionen beladen. Nach 30'* wenig erh. freie V., mäßige Granulabildung. Leukocyten wie zuvor.	*Nach 60'* wenige erh. V. *Leukocyten* in großen Haufen, meist *mit V. vollgepfropft. Nach 120' massenhaft Leukocyten* in riesigen Haufen. *Vibrionen darin* nicht nicht mehr zu erkennen, *granuliert*; ganz *vereinzelte freie V.*	† in 24 Stunden.
XII.	4 14 Kulturen Ch. 3.	8	Keine Vibrionen sichtbar; spärliche Kügelchen. Wenige *Leukocyten*, z. T. mit *V. u. Granula beladen.* *Nach 40' L.* haben *zugenommen*, mit V. u. Granula beladen, z. T. in *Zerfall.*	*Massenhaft Leukocyten* mit *Granula vollgepfropft.* Vielfach in Haufen zu 50 und mehr geballt; viele L. im Zerfalle.	Überlebt.
XIII.	4 14 Kulturen Ch. 3.	10	*Sofort* viele Vibrionen, vereinzelte Granula; *massenhaft Leukocyten*, meist in Haufen. *Nach 30' viele Vibrionen, kaum Granula*; L. wie zuvor.	*Immer noch zahlreiche Vibrionen*; wenig Granula, *massenhaft L., z. T. mit Granula beladen*; diese meist *im Zerfall* begriffen. *Nach 120' Vibrionen weniger zahlreich* als zuvor. Massenhaft *Leukocyten*, größtenteils mit Granula *beladen.*	† in 24 Stunden.
XIV.	7 35 Kulturen Ch. 3.	8	*Nach 10'* mäßig viele Vibrionen, mäßige Granulabildung; nur vereinzelte Leukocyten.	Nur noch Granula, mäßige *Leukocytose* und *Phagocytose.*	Überlebt.
XV.	7 35 Kulturen Ch. 3.	8	*Nach 10'* wenige Vibrionen; fast nur kleinste Granula.	Vereinzelte Vibrionen, vereinzelte Granula; die Leukocyten enthalten Granula.	Überlebt.
XVI.	7 35 Kulturen Ch. 3.	8	*Nach 10' viele Vibrionen*, ebenso viele Granula; *Leukocyten zahlreich*; mit *Granula beladen.*	Fast nur noch Granula; *vereinzelte Vibrionen, Leukocytose und Phagocytose.*	Überlebt.
Ch. 3/3.	Mit keimarmem *Bouillongift Ch. 3* durch acht Wochen gefüttert, etwa 50 cc.	10	Zahlreiche Vibrionen, geringe Granulabildung! Wenige Leukocyten, mononucleäre, mit Vibrionen und Granula beladen.	Vibrionen haben an Zahl beträchtlich abgenommen. Keine Granula. Leukocyten von aufgen. Vibrionen und Granula gebläht.	Überlebt.
Ch. 8/2.	Mit keimarmem *Bouillongift Ch. 8* durch acht Wochen gefüttert, etwa 50 cc.	10	Keine Vibrionen mehr. Nur Granula. Wenige Leukocyten, besonders mononucleäre, welche etwas Granula enthalten.	Vereinzelte Granula, wenige Leukocyten mit Granula.	Überlebt.
Ch. 8/3.	dgl.	14	*Nach 30'* wenige freie Vibrionen, zahlreiche Granula, vereinzelte Leukocyten, welche Vibrionen aufgenommen haben und zerfallen.	Vereinzelte Granula; zahlreiche Leukocyten mit Granula, z. T. im Zerfall.	Überlebt.

Schon kurz nach der Einspritzung (10—15 **Minuten**) **beginnen die gefütterten Tiere sich zu sträuben; die Hinterhand sinkt zur Seite; die Tiere zeigen, wie** alle mit *nativen Gifte* vorbehandelten Tiere hohe **Überempfindlichkeit, während normale (oder mit Wärme veränderter Gifte) vorbehandelte Meerschweinchen** um diese Zeit noch keine Zeichen schwerer **Schädigung aufweisen. Nach Stunden liegen die gefütterten Tiere noch angestrengt atmend mit laufender** Nase und Schnauze darnieder, mit kalten **Extremitäten. Am nächsten Tage sind sie in der Regel wieder munter. (XVII, XVIII, XIX, XX sind gefüttert wie XIV—XVI und nur im Texte aufgeführt.)**

Tabelle VIII.

Serumprüfung gefütterter Meerschweinchen nach Abschluß der Vorbehandlung.

1. Agglutinationsversuch (nach achtwöchiger Fütterung).

	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,002	0,001
Ch. 3/1 u. 3	±	—	—	—	—		
Ch. 8/2 u. 3	+	±	—	—	—		

2. Vergleichender bactericider Plattenversuch (nach achtwöchiger Fütterung).

Serum	0,1	0,03	0,01	0,003	0,001	0,0003	0,0001
Ch. 3/3	+ + + +	+ + + +	+ + + — + + + +	+ + +	+ + + — + + + +	+ + + +	+ + + +
Ch. 8/2	+	+	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + —

+ + + + Keimzahl wie in den Komplement-, Serum- und Einsaatkontrollen.

3. Vergleichender Tropinversuch

mit den Seren von zwei Meerschweinchengruppen, deren eine mit Cholerastamm 3 (starke Giftbildung, hohe Virulenz), die andere mit dem nur gelegentlich schwach hämolysierenden Stamme 8 von geringer Virulenz gefüttert worden waren.

Serum (0,1)	Ch. 3/1	Ch. 3/2	Ch. 3/3	Ch. 8/1	Ch. 8/2	Ch. 8/3
Nach fünfwöchiger Fütterung	keine sichere Phagocytose	keine sichere Phagocytose	keine sichere Phagocytose	keine Phagocytose	keine Phagocytose	keine Phagocytose
	Die Leukocyten sind gut erhalten, die Kerne intakt!			Die Leukocyten sind z. T. in vollem Zerfalle; die Kerne pyknotisch.		
Nach achtwöchiger Fütterung	schwache, aber deutliche Phagocytose	schwache, aber deutliche Phagocytose	schwache, aber deutliche Phagocytose		starke Phagocytose	ganz schwache Phagocytose
	Gute endocelluläre Granulabildung!			Die in Zellen aufgenommenen Vibrionen scharf gefärbt und nicht verdaut!		

Anmerkung: Von den Seren der Meerschweinchen *XIV*, *XV*, *XVI*, *XVII* *agglutiniert* mit 0,1 eines, ein anderes mit 0,05 *nicht; zwei* mit 0,05 *deutlich;* ihre *Tropintiters* waren durchschnittlich deutlich bis *0,03—0,01;* im bactericiden *Plattenversuch* zeigte sich fast keine Hemmung des Wachstums. Das *Mischserum der vier Tiere* gab eine *schwache Hemmung* [gegen die Kontrollen] *bei 0,1.* Sie sind, außer im allgemeinen Text, nicht weiter aufgeführt.

bei sehr geringer und verlangsamter extracellulärer Auflösung der Vibrionen, mit wärmeveränderten Giften oder mit wenig virulenten Stämmen vorbehandelte Tiere dagegen die typische schnelle Granulabildung bei Abwesenheit von Leukocyten.

Ein ganz analoges Verhalten bieten mit wenig virulenten Bacillen gefütterte Tiere dar. Es erfolgt eine sehr schnelle Auflösung der Keime beim Schutzversuche ohne wesentliche Beteiligung der Leukocyten. (Siehe die letzten zwei Tiere der Tabelle VII, Ch. 8, 2 und 3.)



Bemerkenswert ist die hohe Überempfindlichkeit, welche mit virulenten, giftbildenden Vibrionen gefütterte Meerschweinchen bei i. p. Nachbehandlung mit dem gleichen Stamme oder dessen Giften aufweisen; sie verhalten sich auch darin den parenteral mit nativem Gifte vorbehandelten Tieren analog. (Siehe Tabelle IV, Tier 1 und VII. Anmerkung.)

Die Serumprüfung ergab bei den gefütterten Tieren, wie die Tabellen zeigen, folgendes Resultat: Agglutinatorische und bakteriolytische Titer (Plattenversuch) sind nur minimal ausgesprochen oder fehlen. Ebensowenig ließ sich ein antitoxischer Titer feststellen; die im Hämolysin-Bindungsversuche erhaltenen Werte fallen innerhalb der Grenzen normaler Sera.

Dagegen zeigten die Sera gefütterter Tiere sämtlich wenigstens einen gewissen tropischen Titer.

Interessant ist, daß auch das Serum der mit dem wenig virulenten Stamme Ch. 8 gefütterten Tiere Tropin aufweist, neben auch im Plattenversuche nachweisbaren Lysinen; ja in vitro scheinbar sogar in stärkerem Maße als die Sera der mit dem virulenten Stamme gefütterten Meerschweinchen. Aber nur scheinbar; denn während diese gut erhaltene Leukocytenbilder im Tropinversuche darbieten, sowie gute endocelluläre Lyse, zeigen sich bei jenen die Zellkerne pyknotisch, die Leukocyten zum Teil in vollem Zerfalle und nach weiterer Fütterungsimmunisierung der Serumspender zwar gute Aufnahme in die Zellen, die Vibrionen bleiben aber distinkt färbbar und unverdaut.

Bei der Schutzprüfung dieser Tiere zeigt das Peritonealexsudat denn auch das normale *Pfeiffer*sche Phänomen; bei jenen dagegen die zu erwartende Phagocytose. (Siehe Tabelle VII.)

Das parallele Steigen der Tropine und Antitoxine in den verschiedenen Seren, ihre gemeinsame Beziehung zum nativen Antigen, insbesondere aber das Wesen der Fütterungsimmunität als einer ausgesprochen tropischen bei Verwendung virulenter, giftiger Stämme, legen den Gedanken nahe, daß diese beiden Funktionen nur verschiedene Äußerungen einer und derselben Substanz seien.

Die Wirkung der Tropine in Choleraseren möchte ich hiernach im wesentlichen als eine echte Entgiftung auffassen. Erst die spezifische Entgiftung ruft starke Phagocytose hervor und führt zur endocellulären Granulabildung.

Dem entsprechen auch die morphologischen und färberischen Merkmale, welche die Leukocyten im Glas- und Tierversuche um die Entgiftungsgrenze herum aufweisen:

Bei negativer Leukotaxis zeigen sich die weißen Blutzellen schwer geschädigt, das Protoplasma Schrumpfung, die Kerne pyknotische Degeneration. Sie zeigen im übrigen, unter analogen Verhältnissen der



Vergiftung, die gleichen Merkmale, welche an den Exsudatleukocyten im Verlaufe des *Pfeiffer*schen Phänomens bei aktiv oder passiv geschützten Meerschweinchen beschrieben wurde; so haben bei schwacher Phagocytose offenbar nur die widerstandsfähigsten Zellen Mikroben aufgenommen, sind aber zum Teil schon in vollem Zerfalle, ein Zeichen, daß die Entgiftung, als Vorbereitung der endocellulären Verdauung der Vibrionen durch die Leukocyten, nicht vollständig ist.

Führt man so die Tropin- und Antitoxinwirkung auf ein und denselben Vorgang der Entgiftung, nur durch verschiedene Indicatoren angezeigt, zurück, so bleibt bemerkenswert, daß die positive Leukotaxis sich in der Bauchhöhle des Meerschweinchens zeitlich gegen Giftbildner viel stärker äußert als gegen ungiftige Stämme. (Siehe Tabelle VI.)

Offenbar ist der Eintritt der Leukocytose abhängig von einer Reizschwelle. Bei schwachen Giftbildnern (Avirulenz) wird dieser Reiz naturgemäß nicht sehr intensiv entwickelt werden.

So kann man, bei Benutzung des gleichen Serums, bei starken Giftbildnern die Phagocytose in voller Entwicklung beobachten, ehe die Granulabildung beginnt, bei schwachen Gilftbildnern dagegen normale Granulabildung fast abgeschlossen sehen, ehe Leukocytose einsetzt.

Bei der Bedeutung der nativen Gifte für die experimentelle Immunität kann an ihrer Wichtigkeit für die Pathogenese der Cholera kaum mehr gezweifelt werden.

So lange noch eine gewisse Giftigkeit vorhanden ist, besteht auch noch ein entsprechender Grad von Virulenz. Daß alle frischen, aus Kranken gezüchteten Keime lösliche Gifte (Hämolysine) bilden, die sich auf der Blutplatte und in flüssigen Nährböden nachweisen lassen, wurde oben schon erwähnt. Die Bedeutung dieses tryptischen Fermentes, welches nach dem Maße seiner Entstehung, Gewebe langsamer oder schneller aufzulösen vermag, für die Schädigung der Darmwand und die Schaffung großer Giftresorptionsflächen ist ohne weiteres begreiflich.

Aus den mitgeteilten Versuchen möchte ich folgern, daß von entscheidender Wichtigkeit bei der Immunisierung gegen Cholera Antigene sind, die sich in frischen und hochvirulenten Kulturen regelmäßig finden, in älteren wenig virulenten dagegen mehr oder weniger vollständig fehlen können und durch kurzes Erhitzen auf etwa 56—60° sowie durch längere Autolyse bei 37° zerstört werden.

Sie sind charakteristisch durch starke hämolytische Wirkung in vitro und, damit parallel gehend, durch starke toxische Wirkung im Tierversuch (Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen, Pferde).

Diese Antigene sind es hauptsächlich, welche die Bildung von Antitoxinen und Bakteriotropinen auslösen; diesen Anti-Körpern möchte ich eine weit größere Rolle bei der Choleraimmunität zuschreiben, als es in den meisten einschlägigen Arbeiten bisher geschehen ist.



In praktischer Hinsicht ergibt sich daraus die Anregung, diese Antigene bei Schutzimpfungen nach Möglichkeit zur Geltung zu bringen. Dazu ist zunächst die Benutzung von gut virulenten (am besten frischen) Kulturen mit starkem Hämolysierungsvermögen notwendig, ferner eine möglichst schonende Abtötung, am besten vielleicht durch Phenolzusatz, unter Vermeidung von höheren Temperaturen. Die Dosierung solcher Impfstoffe wäre natürlich durch Vorversuche zu erproben.

Desgleichen wären, für etwaige weitere Versuche über Serumprophylaxe und -therapie bei Cholera, zur Serumgewinnung entsprechend hochwertige Gifte von toxischen, stark hämolysierenden Stämmen zu verwenden. —

Herrn Geheimrat *Neufeld* danke ich an dieser Stelle ergebenst, daß es mir, als früheren Assistenten am Institut, gestattet war, dort wieder zu arbeiten und die im vorstehenden mitgeteilten Versuche auszuführen.

Vor allem möchte ich diese Arbeit aber nicht abschließen ohne dankbare Erinnerung an den vor Jahresfrist verblichenen Reg.-Rat Dr. *Ungermann*, welcher an meinen Versuchen den freundlichsten Anteil nahm und mich, neben vielen Anregungen, welche mir unsere Unterhaltungen gewährten, stets mit seinem Rate angelegentlichst unterstützte.

Literaturverzeichnis.

Pfeiffer, R., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XI u. ff. 1892. — *Pfeiffer, R.* und *Bessau*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **56**, 344. — *Kraus, R.*, und *Ruß*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., **45**. 1908; Dort auch ältere Literatur über Choleratoxin: *Roux-Metschnikoff-Taurelli, Brau* und *Denier* u. a. m. — *Huntemüller, O.*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **68**. 1911. — *Neufeld* und *Hüne*, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XXV. 1907. — *Löffler*, In Gedenkschrift für Leuthold. 1906. — *Ungermann*, Diskussionsbemerkung in den Verhandlungen des deutschen Kongresses für Innere Medizin in Warschau. Mai 1916, S. 43. — *Ungermann* und *Kandiba*, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XL. 1912. — *Ficker*, Im Handbuche von *Kolle* und *Wassermann*. Bd. II, S. 137 ff. Literatur zur oralen Immunisierung (insbesondere bei *Brückner*, Zeitschr. f. Immunitätsforschung, **8**, 439. 1911.



(Aus dem Institut „Robert Koch“.)

Keimmenge und Desinfektionserfolg.
Ein Beitrag zur Methodik von Desinfektionsversuchen.

Von

Dr. Bruno Lange.

Assistent am Institut.

Bei Untersuchungen der Absterbebedingungen von Bakterien unter der Einwirkung bestimmter Schädigungen (hoher Temperatur, Nährstoffmangel, Belichtung, chemischer Mittel) ist sehr oft beobachtet worden, daß die Wirkung der Schädigung an *stark verdünnten* Bakterienaufschwemmungen viel stärker hervortritt als an *dichten* derartigen Aufschwemmungen. So hat *Ficker*[10]) bei Untersuchungen an Choleravibrionen festgestellt, daß verdünnte Keimsuspensionen durch destilliertes Wasser und Kochsalzlösung ganz wesentlich schneller abgetötet werden als dichte Keimsuspensionen, ebenso auch der Einwirkung höherer Temperatur schneller erliegen. Verdünnte Vibrionenaufschwemmungen wurden z. B. durch 45° in 10 Minuten, konzentrierte noch nicht nach 45 Minuten abgetötet. Ähnliche Beobachtungen teilen *v. Lingelsheim*[17]) und *Eijkman*[6]) mit. Nach dem letzgenannten Autor erfolgte die Abtötung von Colibakterien in physiologischer Kochsalzlösung durch eine Temperatur von 47—52,2° C wesentlich langsamer, wenn in der Kubikeinheit eine größere Zahl von Keimen der Hitzeschädigung ausgesetzt wurde.

Ficker erklärt diese erhöhte Widerstandsfähigkeit größerer Vibrioneneinsaat in Aqua dest. aus den günstigeren Ernährungsbedingungen, welche die Vibrionen in dichteren Suspensionen durch mitübertragenes Nährbodenmaterial bzw. durch Nährstoffe gewinnen, die von den Bakterienleibern selbst herstammen. Ferner soll bei der Übertragung sehr großer Keimmengen aus einem kochsalzreichen in ein kochsalzfreies Medium die Veränderung des osmotischen Druckes nicht so rapide und keimschädigend sein. Nach *Eijkman* dürfte die erhöhte Resistenz der Keime in dichten Keimsuspensionen auf einer schützenden Wirkung der von den absterbenden Keimen an das Medium abgegebenen Stoffe beruhen.

Die Erklärungen von *Ficker* und *Eijkman* sind gut in Einklang zu bringen mit der Beobachtung, daß Keime in Bouillon, überhaupt in



eiweißhaltigen Flüssigkeiten den verschiedensten Schädigungen gegenüber wesentlich resistenter sind als in Kochsalzlösung, in Kochsalzlösung meist widerstandsfähiger als in Wasser [*Ficker*[10]), *Eijkman*[6]), *Eisenberg*[9]), *Hailer*[13])].

Bei der Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, im besonderen nach der Suspensionsmethode, tritt die Bedeutung der Größe der Keimeinsaat für den Desinfektionserfolg sehr stark hervor. Auf diese Tatsache und die aus ihr zu ziehenden Schlußfolgerungen für die Methodik der Desinfektionsversuche haben breits *Behring*[1]), *Gruber*[12]), *Boer*[3]), *Krönig* und *Paul*[16]), nach ihnen u. a. *Chick* und *Martin*[4]) hingewiesen. Nach *Chick* und *Martin* betrug die Zeit, welche zur Abtötung von Bac. paratyphi bei 21° durch 8 promill. Phenol erforderlich war, für 187 000 Individuen pro Kubikzentimeter 2,25′ für 66 000 000 pro Kubikzentimeter 34,5′. In neuerer Zeit haben exakte vergleichende Versuche von *Hailer*[14]) wiederum gezeigt, in wie hohem Maße der Desinfektionserfolg bei Suspensionsversuchen von der Keimeinsaat abhängt [vgl. auch die Untersuchungen von *Dengler*[5])]. Die Autoren beschränken sich meist darauf, die Tatsache als solche festzustellen und aus ihr für die Praxis der Desinfektionsversuche Schlußfolgerungen zu ziehen. Eine *Erklärung* der Erscheinung zu geben, wird nur von wenigen versucht. *Dengler* ist der Meinung, je dichter die Bakteriensuspension sei, desto mehr *resistente* Keime würden der Desinfektion zugeführt. Auch *Hailer* nimmt an, daß die schlechte Desinfektionswirkung gegenüber einer größeren Menge von Bakterien zum großen Teil daraus zu erklären sei, daß mit der Größe der Bakterienein- und aussaat die Wahrscheinlichkeit wachse, besonders resistente Individuen zu erfassen, da solche stets nur in einem gewissen Ausmaße in jeder Kultur vorhanden seien. Wird aber bei zunehmender Bakterieneinsaat die absolute Menge des Desinfiziens nicht zugleich vermehrt, so besteht nach *Hailer* u. a. die Gefahr, daß die Konzentration des Desinfiziens infolge Adsorption an große Mengen von Bakterien sich verringert und eine erhöhte Resistenz des Restes der Bakterien bzw. eine mangelhafte Wirkung des Desinfziens vorgetäuscht wird, die in Wirklichkeit nicht vorhanden ist. In wie hohem Grade nicht nur Sublimat, sondern auch Phenole infolge Adsorption an kolloidale organische Bestandteile und feste Partikel auch lebende und tote Bakterien in der Suspensionsflüssigkeit an Wirksamkeit einbüßen, zeigen insbesondere die Arbeiten von *Chick* und *Martin* (l. c.).

Dafür, daß die resistenten Individuen einer Kultur für den Ablauf des Desinfektionsvorgangs von großer Bedeutung sind, scheint nun eine weitere Beobachtung zu sprechen, welche sich nicht auf den Vergleich kleinerer und größerer Einsaatmengen, vielmehr auf die *zeitliche Ordnung des Keimabsterbens* innerhalb einer der Desinfektion unterliegenden Gruppe von Keimen bestimmter Menge bezieht.



Bekanntlich verläuft der *Absterbevorgang* einer bestimmten Keimmenge, wie er nach der Methode von *Paul* und *Krönig* gut zur Darstellung gebracht wird, so, daß nicht alle Bakterien gleichzeitig, sondern teils schneller, teils langsamer dem Tode anheimfallen. Die Absterbeordnung läßt sich in Form einer Kurve darstellen, welche vielfach derjenigen des Verlaufs monomolekularer Reaktionen gleicht. Auf die Übereinstimmung der Absterbeordnung der Bakterien mit dem Ablauf solcher monomolekularer Reaktionen haben *Madsen* und *Nyman*, nach diesen *Hariette Chick* und *Paul* in ihren Arbeiten hingewiesen [vgl. *Reichenbach*[20])]. Diese Übereinstimmung ist überall da gegeben, wo die Anzahl der absterbenden Individuen in jedem Zeitmoment proportional der Anzahl der noch vorhandenen ist. Es ist die Frage, ob die Übereinstimmung eine nur zufällige ist oder ob beide Vorgänge ihrem Wesen nach als identisch anzusehen sind. *Reichenbach*[20]) kommt auf Grund theoretischer Erwägungen und experimenteller Studien zu dem Ergebnis, daß die Absterbeordnung der Bakterien ihrem Wesen nach mit dem chemischen Vorgang nicht verglichen werden darf. Der Autor gibt für die Ursache des eigentümlichen zeitlichen Verlaufs der Keimvernichtung unter der Wirkung der Schädigung eine Erklärung, die kurz folgendes besagt:

Da angenommen werden muß, daß mit dem Einsetzen der Schädigung alle Bakterien den gleichen Bedingungen unterliegen — im Gegensatz zu den nach dem Gesetze der Wahrscheinlichkeit nacheinander in den zur Umsetzung geeigneten Zustand geratenden Molekülen —, kann der Grund des verschiedenen zeitlichen Absterbens der Bakterien nur aus einer verschiedenen Resistenz der einzelnen Keime erklärt werden. Wenn die Bakterien von gleicher Resistenz wären, „so wäre nicht einzusehen, warum das eine früher absterben sollte als das andere“. Auch die aus *Reichenbachs* eigenen Versuchen mit Hitzewirkung auf Suspensionen von Sporen sich ergebende Tatsache, daß ein für alle Bakteriensporen gültiges Gesetz nicht abzuleiten ist, läßt sich nach *Reichenbachs* Ansicht mit der Annahme eines physikalisch chemischen Vorgangs sehr schwer vereinigen, dagegen sehr wohl erklären, aus der Annahme ungleicher Mengen der innerhalb der einzelnen vergleichsweise geprüften Sporensuspensionen vorhandenen Resistenzstufen. Ebenso muß nach *Reichenbach* die Beobachtung, daß die Art der Schädigung so gar keine Rolle spielt, zu dem Schluß führen, daß der Grund für die eigentümliche Absterbeordnung in den Bakterien selbst, nämlich in der Verschiedenheit ihrer Resistenz zu suchen ist. Daß ein für alle Bakterien gültiges Gesetz des Absterbens nicht anzunehmen ist, darauf weisen übrigens auch die oft nicht unerheblich voneinander abweichenden Formen des Verlaufs des Absterbens bei verschiedenen Bakterien bzw. Sporen und verschiedenen Kulturen derselben Bakterienart hin, die *Eijkman*[8]) beobachten konnte.

Die Erklärung, welche *Reichenbach* dafür gibt, daß die Absterbekurve so oft der Kurve des Verlaufs der monomolekularen Reaktionen gleicht, interessiert für den vorliegenden Zweck weniger. Das Wesentliche in den Ausführungen *Reichenbachs* liegt in der Annahme der *Resistenzverschiedenheit* der Keime als Ursache der Besonderheiten des Absterbevorganges der Bakterien. Je größer nach *Reichenbach* die Anfangsmenge einer der Desinfektion unterworfenen Bakteriensumme ist, um so größere Aussichten bestehen, daß besonders resistente Keimformen darunter sind, die eine Verzögerung der Desinfektionswirkung bedingen. Beachtenswert ist, daß ein anderer Autor — *Reichel*[19]) — als Ursache für die kürzere oder längere Lebensfähigkeit der Keime einer bestimmten Keimmenge neben individuellen Resistenzunterschieden noch eine *ungleichmäßige Verteilung der Keime in der Flüssigkeit* gelten läßt.

Eine Erklärung der Absterbeordnung der Bakterien unter der Einwirkung von Desinfektionsmitteln im allgemeinen, des Einflusses der Größe der Keimeinsaat auf den Desinfektionserfolg im besonderen hat nun nicht etwa bloß theoretisches, vielmehr ein eminent *praktisches Interesse* mit Rücksicht auf unsere Maßnahmen bei praktischen Desinfektionsversuchen.

Eine Forderung für die Praxis solcher Versuche ergibt sich ja ganz abgesehen von den Erklärungen allein aus der *Tatsache* der Ungleichheit der Desinfektionswirkung bei verschieden großer Keimeinsaat mit absoluter Notwendigkeit, nämlich die, bei allen vergleichenden Desinfektionsversuchen *gleiche Keimmengen* zu benutzen. *Geppert*[11]), *Behring*[2]), *Krönig* und *Paul*[16]), *Reichenbach*[20]) haben in ihren Arbeiten hierauf eindringlich hingewiesen.

Es ist nun wichtig, daß unter den genannten Autoren *Reichenbach* über diese Forderung hinausgeht, indem er die weitere aufstellt, bei der praktischen Ausführung der Desinfektion mindestens diejenigen Abtötungszeiten zugrunde zu legen, die „*bei möglichst reichlicher Anfangsmenge*“ für die resistentesten Individuen in künstlichen Kulturen festgestellt wurden. Er geht dabei von der Erwägung aus, daß über die Absterbeordnung von unter natürlichen Verhältnissen vorkommenden Bakterienansammlungen nichts vorausgesagt und auch keine Vorstellung gewonnen werden kann über die Verteilung der Resistenzstufen auf die einzelnen Individuen, daher mit einer gleichmäßigen hohen Resistenz solcher Keime gerechnet werden müsse.

Vor *Reichenbach* ist diese Forderung von *Gruber*[12]), in neuester Zeit u. a. wieder von *Dengler*[5]), *Süpfle*[21]) und *Hailer*[15]) erhoben worden. Besteht die Auffassung dieser Autoren zu Recht, daß die Abtötungszeit sehr großer Keimmengen einen Maßstab für die Resistenz der Keime mit besonders hoher natürlicher Widerstandsfähigkeit abgibt, so spricht



das ohne Frage für *die Heranziehung möglichst großer Keimmengen bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln.*

Ob unter allen Umständen von einem Desinfektionsmittel die Abtötung auch der wenigen maximal resistenten Individuen einer Testkultur verlangt werden muß, ist freilich auch dann noch zweifelhaft, denn es kann nach allen Erfahrungen angenommen werden, daß diese Keimresistenz gegenüber dem Desinfiziens keineswegs, wie *Hailer* annimmt, der Virulenz grundsätzlich parallel geht. Zum mindesten sind für die Annahme *Hailers* Beweise nicht erbracht. Manche Beobachtungen sprechen sogar für das Gegenteil.

Ist aber nicht die natürliche höhere Resistenz gewisser Bakterienindividuen die Ursache, warum dichte Keimsuspensionen schwerer abgetötet werden als verdünnte derartige Aufschwemmungen, handelt es sich vielmehr nur um eine *vorgetäuschte hohe Resistenz* infolge ungleichmäßiger Verteilung der Keime im Desinfektionsmilieu oder infolge Mitübertragung von Nährstoffen bei größerer Einsaatmenge oder handelt es sich um eine Abschwächung der Desinfektionswirkung durch Verminderung der Konzentration des Desinfiziens (Adsorption des Desinfiziens an Bakterienmassen), so *hat die Verwendung sehr dichter Suspensionen* mindestens für den Suspensionsversuch, bei dem die Menge des Desinfektionsmittels nicht zugleich vergrößert werden kann, ohne die Aussaatmenge zu verringern, keinerlei Vorteile.

Wir ersehen aus den obigen Ausführungen, wie sehr die Erklärungen der Autoren für die Absterbebedingungen der Bakterien unter dem Gesichtspunkt der quantitativen Verhältnisse der Einsaat voneinander abweichen. Mir scheint, als ob die Ergebnisse der Untersuchungen von *Ficker* und *Eijkman* doch in höherem Grade Berücksichtigung verdienen, als dies in neuester Zeit geschehen ist. Diese Untersuchungen haben wahrscheinlich gemacht, daß für den Grad der Widerstandsfähigkeit der Bakterien bzw. Sporen gewisse durch die Technik der Desinfektionsversuche bedingte also *künstliche resistenzsteigernde Vorgänge* eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen.

Mit Rücksicht auf die sich aus den abweichenden Erklärungen für die Praxis der Desinfektionsversuche ergebenden völlig voneinander verschiedenen Schlußfolgerungen sind Untersuchungen darüber von großer Wichtigkeit, inwieweit die Erscheinungen der Herabminderung der Desinfektionswirkung bei großer Keimeinsaat bzw. -aussaat geknüpft sind an eine schon vor Einleitung des Desinfektionsversuchs *in der Kultur vorhandene natürliche höhere Resistenz* gewisser Keime einer Kultur, inwieweit an eine *künstliche Resistenzsteigerung durch zufällige Wirkungen des Milieus*, in dem die Keime suspendiert sind, endlich wieweit an eine *Abschwächung der Desinfektionswirkung chemischer Mittel infolge Konzentrationsverminderung des Desinfiziens.*



Die nachstehenden Versuche sind teils solche mit Hitzeabtötung, teils solche mit chemischen Desinfektionsmitteln[1]). Hitzeversuche eignen sich für den vorliegenden Zweck deswegen besonders gut, weil hier ja eine Adsorption des Desinfiziens durch die Bakterien, welche die Deutung der Versuchsergebnisse kompliziert hätte, nicht in Frage kommt.

I. Abtötung durch hohe Temperatur im Suspensionsversuch.

Die Technik der Hitzeversuche war kurz folgende.

Die Bakterienaufschwemmungen wurden wie in früheren Desinfektionsversuchen[2]) durch Abschwemmen 24stündiger Schrägagarkulturen verschiedener Staphylokokken bzw. Coli-Stämme mit Leitungswasser oder Aqua dest., und zwar 5 bzw. 10 ccm Wasser pro Schrägagarkultur hergestellt, die Suspension vor dem Versuch durch scharfes Zentrifugieren von gröberen Partikeln befreit. In einigen Versuchen geschah die Aufschwemmung mit Bouillon, auch in Serum. In den Versuchen mit abgetöteten Bakterien wurde eine Hälfte der gebrauchsfertigen Bakterienaufschwemmung kurz vor dem Versuch durch Erhitzung im Wasserbade (Staphylokokken 1 Stunde, Coli $1^1/_2$—2 Stunden bei 62°) abgetötet, in einigen Versuchen wurden auch ältere abgetötete Bakteriensuspensionen verwandt.

Die vergleichende Prüfung des Verhaltens verschieden dichter Bakterienaufschwemmungen gegenüber der Erhitzung geschah in folgender Weise. In ein mit Thermoregulator versehenes Wasserbad wurden die die zu prüfenden Bakterienaufschwemmungen enthaltenden Reagensröhrchen derart hineingestellt, daß der Flüssigkeitsspiegel des Wasserbades mindestens 5 cm über demjenigen in den Röhrchen stand, und die Röhrchen selbst möglichst vollständig von dem Wasser des Wasserbades umspült wurden. Dieses wurde durch eine Rührvorrichtung öfter gründlich durchgemischt. Die Reagensröhrchen wurden zunächst mit der gleichen Menge Wasser bzw. Bouillon — etwa 5 ccm — gefüllt und nachdem die Flüssigkeit die im Versuch benötigte Temperatur erreicht hatte, wurde je 1 ccm kurz auf 40° vorgewärmter Bakterienaufschwemmung zugegeben und gut gemischt, die Temperatur des Wasserbades und der Flüssigkeit in den Röhrchen durch eingestellte Thermometer kontrolliert. Nach einer Reihe von Vorversuchen erwies sich die Einstellung je eines Thermometers pro Versuchsröhrchen als nicht erforderlich. Ich habe mich daher darauf beschränken können, neben der Wasserbadtemperatur die Temperatur lediglich *eines* neben den Versuchsröhrchen eingebrachten Kontrollröhrchens an einem Thermometer zu beobachten. Es wurde nun von Zeit zu Zeit aus jedem Röhrchen mit Pipette ein Tropfen herausgenommen und auf Schrägagar oder in Bouillon-Röhrchen zu 6—10 ccm ausgesät. In einem Teil der Versuche wurden alle Entnahmen aus je einem Röhrchen vorgenommen, dieses Röhrchen hierbei entweder im Wasserbade belassen oder in einzelnen Versuchen zur Aussaat herausgenommen, in einem anderen Teil wurde für jede Entnahme ein besonderes Röhrchen angelegt, dieses nach der festgesetzten Zeit herausgenommen und von ihm abgeimpft. Der Verschluß der Reagensröhrchen geschah teils durch Watte, teils durch Glasdeckel. Beim Einfüllen der Bakteriensuspensionen wie bei der Entnahme von Proben aus den Röhrchen, wurde peinlich darauf geachtet, daß eine Verunreinigung der trockenen Innenwand der Röhrchen durch Teile der Bakterienaufschwemmung vermieden wurde. Die Gleichmäßigkeit unserer Versuchsergebnisse

[1]) Bei der Ausführung der Versuche haben mich Fräulein *Luise Karlbaum* und Frau Dr. *Sütterlin* in dankenswerter Weise unterstützt.



[2]) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, H. 1, S. 82.



zeigt, daß Fehler der Technik bei der Beurteilung des Desinfektionserfolges nicht in Betracht kommen.

Auch die nach verschiedener Technik gewonnenen Resultate sind, wie zahlreiche Beobachtungen ergeben haben, gut miteinander vergleichbar.

Es schien mir für die Beurteilung der ganzen Frage sehr wesentlich die Feststellung, ob im Hitzeversuch eine bei größerer Keimeinsaat etwa hervortretende Abschwächung der Desinfektionswirkung durch die größere Zahl *lebender* Bakterien bedingt sei *oder ob eine gleiche Wirkung auch durch Zugabe abgetöteter Keime erzielt werden könne*. Es ergab sich nun, um dies schon hier vorwegzunehmen, das überraschende Resultat, daß *auch die Zugabe abgetöteter Bakterien zu lebenden Keimen imstande ist, die Widerstandsfähigkeit dieser lebenden Keime* in geringerem oder höherem Maße zu steigern. Ganz fehlte dieser Einfluß toter Bakterien in dichteren Suspensionen äußerst selten, in derartigen Versuchen war aber auch eine Steigerung der Widerstandsfähigkeit der Keime durch Zugabe großer Mengen lebender Bakterien nicht erreicht worden.

Die beiden Versuche vom 16. und 17. I. (Tab. I) zeigen, wie beträchtlich die Resistenz von Colibakterien durch Zugabe größerer Mengen *abgetöteter* Colikeime gesteigert werden kann.

Tabelle I. 16. I. und 17. I. 22.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Koli in Suspension).*
Temperatur 60°.

Aussaat auf Schrägagar nach	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.
a) 2 Tropfen B.S. leb. (1:10) + 6 ccm Wasser	+	0	0	0	0	0	0	0
b) 2 Tropfen B.S. leb. (1:10) + 5 ccm Wasser + 1 ccm B.S. abget. unvd.	0(+)	+	0(+)	0(+)	0	0	0	0
a) 2 Tropfen B.S. leb. unvd. + 6 ccm Wasser	+	+	0	0	0	0	0	0
b) 2 Tropfen B.S. leb. unvd. + 5 ccm Wasser + 1 ccm B.S. abget. unvd.	+	+	+	+	+	0(20)	0	0

*) Bakterienaufschwemmung in nicht abgekochtem Leitungswasser.

Bemerkung: B.S. = Bakterien-Suspension (1 Schrägagarkultur in 5 ccm abgeschwemmt.)
leb. = lebend.
abget. = abgetötet.
unvd. = unverdünnt.
+ = Wachstum nach 24 Std. (mehr als 20 Keime).
(+) = Wachstum nach mehr als 24 Std.

Wenn in den Tabellen nichts anderes vermerkt ist, erfolgte die *Abtötung* der Keime in wässeriger Aufschwemmung durch Erhitzung im Wasserbade wie oben angegeben.



Die gleiche Wirkung abgetöteter Keime ist aus zwei anderen Versuchen zu ersehen.

Tabelle II. 10. XII. 21.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Staphylococcus aureus in Suspension).*
Temperatur 55°.

Aussaat auf Schrägagar nach	3′	5′	10′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 3 Trpf. B.S. leb. unvd. in 1 ccm Wasser + 5 ccm Wasser . . .	++	+	0(1)	0	0	0	0	0	0
b) 1 ccm B.S. leb. unvd. + 5 ccm Wasser	++	++	++	+	+	0(2)	0	0	0
c) 3 Trpf. B.S. leb. unvd. in 1 ccm B.S. abget. unvd. + 5 ccm Wasser	++	++	++	+	20	0(1)	0	0	0

Tabelle III. 15. XII. 21.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Coli in Suspension).*
Temperatur 60°.

Aussaat auf Schrägagar nach	3′	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std	3 Std.	4 Std.
a) 3 Trpf. BS. leb. unvd. in 1 ccm Wasser + 5 ccm Wasser	+++	+++	+++	++	0 (+)	0	0	0	0	0
b) 1 ccm B.S. leb. unvd. + 5 ccm Wasser . . .	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	0	0	0
c) 3 Trpf. B.S. leb. unvd. in 1 ccm B.S. abget. unvd. + 5 ccm Wasser . . .	+++	+++	+++	++	++	+	26	0	0	0

*) Bakterienaufschwemmung in nicht abgekochtem Leitungswasser.

In beiden Versuchen wird durch Zugabe *toter* Keime zu einer bestimmten Menge Staphylokokken bzw. Coli die Resistenz dieser Bakterien in gleicher Weise erhöht wie durch Zugabe einer gleichgroßen Menge *lebender* Keime. In den Versuchen der Tab. I—III betrug die der Anfangsmenge zugesetzte Bakterienmenge das 10—100fache der Anfangsmenge. In einem weiteren Versuch (Tab. IV) war das Verhältnis sogar fast 1 : 1000; die Einsaat bei a) war so klein, daß die Keime schon nach 5′ abgetötet waren, wurde ihnen 1 ccm lebender Bakterienemulsion zugesetzt, so war die Abtötung noch nach 2 Stunden nicht erreicht, der Zusatz *abgetöteter* Keime in gleicher Menge hat in diesem Versuch nicht den gleichen Effekt wie der Zusatz *lebender*, bedingt aber doch eine auffallende Zunahme der Resistenz. Auf diese Differenz zwischen der Wirkung lebender und toter Keime soll später näher eingegangen werden.

Wie aus den wiedergegebenen Versuchen klar hervorgeht, läßt sich die Widerstandsfähigkeit wässeriger Aufschwemmungen von Staphylokokken und Coli gegen Hitzewirkung durch Zugabe großer Mengen *abgetöteter* Keime in einem Grade steigern, der demjenigen bei Einsaat größerer Mengen *lebender* Keime fast gleichkommt. Hiernach kann der



Tabelle IV. 20. I. 21.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Coli in Suspension).*
Temperatur 58°.

Aussaat auf Schrägagar nach	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 3 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm Wasser + 5 ccm Wasser	0	0	0	0	0	0	0	0	0
b) 1 ccm B. S. leb. unvd. + 5 ccm Wasser	++	++	++	+	+	+	(20)	0	0
c) 3 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm. B. S. abget. unvd. + 5 ccm Wasser	+	+	+	20	10	0	0	0	0

*) Bakterienaufschwemmung in nicht abgekochtem Leitungswasser.

Effekt der Resistenzsteigerung bei hoher Bakterieneinsaat da, wo er, wie in den mitgeteilten Versuchen, in besonders auffälliger Weise hervortritt, zum mindesten *nicht in erster Linie auf einer der dichteren Suspension entsprechenden Einsaat von Natur aus resistenter Keime* beruhen. Es ist von vornherein sehr wahrscheinlich, daß diese die Keimvernichtung hemmende Wirkung nicht bloß abgetöteten, sondern — und vielleicht in noch höherem Grade — *lebenden* Keimen zukommt, und die nachfolgenden Untersuchungen werden den Beweis dafür bringen. Aber selbst wenn man annehmen wollte, daß es sich hier um Produkte handelt, die lediglich aus *absterbenden* Bakterien frei werden, würden derartige Wirkungen in keinem Desinfektionsversuch fehlen, da infolge der Schädigung während des Versuches selbst regelmäßig mehr oder weniger größere Keimmengen zum Absterben kommen, ganz abgesehen von den gewiß nicht wenigen bereits abgestorbenen Keimen, die jedesmal bei Herstellung der Suspension in diese aus der Kultur mit herübergenommen werden. Dabei ist natürlich die Zahl der zur Abtötung gelangenden oder bereits abgestorbenen Keime um so größer, je größer die Keimeinsaat gewählt wird.

Es sei bemerkt, daß für die oben wiedergegebenen Versuche mit abgetöteten Keimen nur *vierundzwanzigstündige Kulturen* verwandt wurden. Einige Versuche mit Zusatz 14 Tage alter durch Hitze abgetöteter Staphylokokkenkultur gab *keine* Wirkung der abgetöteten Keime. *Alten Kulturen* scheinen demnach die erwähnten Wirkungen *nicht* oder zum mindesten nicht regelmäßig zuzukommen.

Wie bereits erwähnt, glaubt *Ficker* die Resistenzverschiedenheiten von Choleravibrionen in Aqua dest. je nach der Größe der Keimeinsaat pro Kubikzentimeter in erster Linie auf Unterschiede im Nährstoffgehalt der Suspensionsflüssigkeit zurückführen zu müssen. Bei großer Keimeinsaat sollen in das Wasser Nährstoffe des Nährbodens und Bakterienstoffe mit übertragen werden und hierdurch eine Zunahme der Widerstandsfähigkeit der Choleravibrionen bedingt sein.



Wieweit eine Zugabe von Nährstoffen bei großer Einsaat Resistenzsteigerung von Choleravibrionen in Aqua dest. verursacht, bleibe dahingestellt; ob einer solchen auch für die Ergebnisse der eingeführten Hitzeversuche mit Staphylokokken und Coli eine Bedeutung zukommt, darüber können Versuche Aufschluß geben, welche den Einfluß der Keimdichte in *nährstoffreichen* Flüssigkeiten zum Gegenstand haben. Ist nämlich die Resistenzsteigerung *lediglich* durch mitübertragene Nährstoffe bedingt, so darf in nährstoffreichem Milieu ein Unterschied geringer und starker Keimeinsaat nicht hervortreten, denn die mitübertragenen Stoffe sind doch so gering, daß sie in einem solchen Medium kaum irgendeine Rolle spielen dürften.

Daß die Zugabe von Bouillon oder Serum die Widerstandsfähigkeit der in Wasser suspendierten Bakterien gegenüber der Hitzeschädigung beträchtlich vermehrt, davon konnte ich mich selbst wiederholt überzeugen. Z. B. erfolgte in einem hier nicht ausführlich wiedergegebenen Versuch vom 21. XII. 1921 die Abtötung einer Staphylokokkensuspension (1 Tropfen lebender Bakt.-Em. auf 2 ccm Flüssigkeit) in *Wasser* bei 58° in 20 Minuten, in *Bouillon* bei der gleichen Temperatur erst in 2 Stunden, die Abtötung der gleichen Einsaat Staphylokokken in einem anderen Versuch (3. I. 1922) in *Wasser* bereits nach 20 Minuten, in *Serum* nach 3 Stunden, in *Bouillon* noch nicht nach 4 Stunden. Auch in den Versuchen der Tab. V und VI zeigen Coli und Staphylokokken bei verhältnismäßig geringer Einsaat in Bouillon eine erhöhte Resistenz. Es ist zu beachten, daß *trotzdem* durch Zugabe lebender wie toter Bakterien in größerer Menge eine wenn auch nicht sehr starke *weitere Steigerung der Widerstandsfähigkeit* zu erzielen ist.

In beiden Versuchen hat die Zugabe *lebender* Keime allerdings eine etwas stärkere Wirkung als diejenige abgetöteter Keime.

Nach dem Ergebnis dieser Versuche kann die bei großer Keimeinsaat beobachtete künstliche Resistenzsteigerung der Bakterien zum Teil auf Stoffe — etwa auf mitübertragene Nährstoffe der Kultur oder auf

Tabelle V. 23. I. 22.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Coli in Suspension). Zusatz von Bouillon. Temperatur 60°.*

Aussaat auf Schrägagar nach	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 2 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm Wasser + 5 ccm Bouillon . .	++	++	++	+	0	0	0	0	0
b) 1 ccm B. S. leb. unvd. + 5 ccm Bouillon	++	++	++	++	+	+	0	0	0
c) 2 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm B. S. abget. + 5 ccm Bouillon	++	++	++	++	+	10	0	0	0

*) Bakterienabschwemmung in nicht abgekochtem Leitungswasser.



Tabelle VI. 30. I. 22.
Große und kleine Einsaatmenge im Hitzeversuch mit Staphylokokken in Suspension).*
Zusatz von Bouillon. Temperatur 56°.

Aussaat auf Schrägagar nach	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 2 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm Wasser + 5 ccm Bouillon	8(+)	2(+)	0(20)	0	0	0	0	0	0
b) 1 ccm B. S. leb. unvd. + 5 ccm Bouillon . .	++	++	+	+	+	+	0(10)	0(12)	0
c) 2 Trpf. B. S. leb. (1:100) in 1 ccm B. S. abget. unvd. + 5 ccm Bouillon	+	+	+	12(+)	10(+)	6(+)	0	0	0

*) Bakterienabschwemmung in nicht abgekochtem Leitungswasser.

Nährstoffe aus den Bakterienleibern selbst herstammend — zurückgeführt werden, die den Bakterien einerseits unmittelbar zur Nahrung dienen, andrerseits sie gegen die in ihrem Wesen wohl noch nicht hinreichend erklärten Schädigungen beim Wechsel des Mediums schützen. Daneben dürften aber noch andere offenbar von den Bakterien herrührende Einflüsse in Betracht kommen. Über die Natur derselben muß an späterer Stelle noch einiges gesagt werden.

Sämtliche bisherigen Versuche ziehen zum Vergleich mit verdünnten Keimsuspensionen *sehr dichte* Aufschwemmungen heran. Die Flüssigkeit in den Röhrchen war nach Zugabe der größeren Bakterienmenge mehr oder weniger milchig getrübt. Es war nun wichtig festzustellen, ob die beschriebene Erscheinung der Resistenzerhöhung etwa nur in derartigen sehr dichten Suspensionen oder ob sie unter allen Umständen entsprechend der Einsaatmenge pro Kubikeinheit auftritt. Es wurden daher verschieden große Einsaatmengen in einigen Versuchen so bemessen, daß die „große“ Keimeinsaat zwar erheblich größer war als die „kleine“, für sich aber nur eine schwache, das Wasser nicht trübende Bakterienaufschwemmung darstellte.

Eine größere Zahl nach dieser Richtung hin — zunächst nur mit lebenden Keimen angestellter Versuche hat nun ergeben, daß unter solchen Bedingungen ein Unterschied der Widerstandsfähigkeit trotz sehr erheblich voneinander abweichender Einsaatmengen dann überhaupt nicht nachweisbar ist, wenn die Keime einer stärkeren schnell wirkenden Hitzeschädigung ausgesetzt werden. So erfolgte z. B. im Versuch vom 28. I. 1922 die Abtötung einer stark verdünnten Aufschwemmung von Coli (Einsaat 1 Tropfen einer $^1/_{100}$ verdünnten Bakterienemulsion pro Kubikzentimeter) durch eine Temperatur von 55° in derselben Zeit von 10 Minuten wie diejenige einer tausendmal größeren Keimmenge. Bei geringer Hitzeschädigung sind, wenn auch nicht regelmäßig, gewisse Unterschiede in den Abtötungszeiten verschieden großer



Keimeinsaaten nachweisbar. Dieselben sind in Bouillon äußerst gering, wenn sie überhaupt nachweisbar sind, in Wasser treten sie im allgemeinen etwas stärker hervor.

In einem Versuch vom 18. II. 1922 erfolgte die Abtötung von Staphylokokken in Wasser entsprechend einer Einsaat aus der Bakterienemulsion 1 : 1000 durch 48° in 45 Minuten, die Abtötung einer 100 mal größeren Keimeinsaat nach 60 Minuten; im Versuch vom 20. II. lag die Abtötungszeit von Staphylokokken 1 : 100 000 in Bouillon durch 54° zwischen 2 und 3 Stunden, die der 100 mal größeren Keimmenge zwischen 3 und 4 Stunden, bei Anwendung der 10 000 mal größeren Menge gleichfalls zwischen 3 und 4 Stunden, in letzterem Falle kamen allerdings auch bei 4stündiger Hitzeeinwirkung noch nach 3 Tagen einzelne Kokken zur Auskeimung.

Auf eine ausführliche Wiedergabe der zitierten Versuche kann verzichtet werden, es sei ergänzend nur bemerkt, daß bei Anwendung von Schrägagar zur Nachkultur die *Quantität* der auskeimenden Bakterien, wie zu erwarten, regelmäßig der größeren Einsaat entsprechend größer ausfiel.

Wenn lediglich das Endresultat der Desinfektion berücksichtigt wird, ist der Unterschied der Wirkung verschieden großer Keimeinsaat in stark verdünnten Keimaufschwemmungen verglichen mit dichten Suspensionen *ganz auffallend gering.*

Eine Herabminderung des Desinfektionseffektes durch Zugabe abgetöteter Keime konnte in keinem Versuch erzielt werden.

Auf die erwähnten geringen Unterschiede im Desinfektionserfolg bei variierender Keimmenge in dünnen Aufschwemmungen komme ich später noch näher zurück; ich möchte aber schon hier bemerken, daß sie eine ganz andere Ursache haben wie die auffallend starken Unterschiede in den Versuchen mit sehr dichten Keimsuspensionen.

Es wurde nun in einer weiteren Reihe von Versuchen geprüft, wieweit die Resistenz bestimmter Keime durch eine größere Menge von lebenden Bakterien einer anderen Art und von geringerer Hitzeresistenz gesteigert werden konnte. In den Versuchen der Tab. VII und VIII wurde die Widerstandsfähigkeit einer kleinen in Wasser suspendierten Menge von Colibakterien gegenüber der Erhitzung teils für sich, teils gemischt mit einer dichten Suspension lebender Staphylokokken in demselben Versuch geprüft. Die Mengenverhältnisse der Bakterien waren so gewählt, daß die kleine Colimenge noch eine deutlich stärkere Resistenz gegen 60° aufwies als die große für die Coli-Staphylokokkenmischung verwandte Staphylokokkenmenge.

Beide Versuche zeigen eine auffallende Steigerung der Widerstandsfähigkeit der resistenteren Keime (Coli) durch Zugabe schwächer resistenter Staphylokokken. Solche recht auffallenden Ergebnisse lassen



Tabelle VII. 12. I. 22.
Resistenzbeeinflussung von Coli durch Staphylokokken im Hitzeversuch in Suspension). Temperatur 60°.*

Aussaat auf Schrägagar nach	5'	10'	20'	30'	45'	60'	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 3 Trpf. Coli B.S. leb. unvd. in 1 ccm Aqua dest. + 5 ccm Aqua dest.	++	++	+	0	0	0	0	0	0
b) 0,5 ccm Staph. B.S. leb. unvd. in 1 ccm Aqua dest. + 5 ccm Aqua dest.	++	+	0	0	0	0	0	0	0
c) 3 Trpf. Coli B.S. leb. unvd. in 0,5 ccm Aqua dest. + 0,5 ccm Staph. B.S. leb. unvd. + 5 ccm Aqua dest.	++	++	++ nur Coli	+ Coli	+ Coli	+ Coli	0	0	0

Tabelle VIII. 25. I. 22.
Resistenzbeeinflussung von Coli durch Staphylokokken im Hitzeversuch in Suspension). Temperatur 60°.*

Aussaat auf Schrägagar nach	5'	10'	20'	30'	45'	60'	2 Std.	2 Std.	4 Std.
a) 1 Trpf. Coli B.S. leb. unvd. in 1 ccm Aqua dest. + 5 ccm Aqua dest.	+	10	0	0	0	0	0	0	0
b) 1 ccm Staphyl. B.S. leb. unvd. + 5 ccm Wasser	0	0	0	0	0	0	0	0	0
c) 1 Trpf. Coli B.S. leb. unvd. in 1 ccm Staphyl. B.S. leb. unvd. + 5 ccm Aqua dest.	++	++	+ nur Coli	+ Coli	20 Coli	0(10) Coli	0	0	0

*) Bakterienaufschwemmung in Aqua dest.

sich aber wiederum nur mit dichteren Keimaufschwemmungen erzielen. Wählt man sehr verdünnte Keimsuspensionen, so gelingt eine derartige künstliche Steigerung der Widerstandsfähigkeit nur sehr selten und in sehr geringem Ausmaße.

Soweit diese Versuche *positiv* sind, beweisen sie zum mindesten daß die Widerstandsfähigkeit von Bakterien durch unspezifische Bakterienstoffwechselprodukte bzw. Bestandteile von Bakterienleibern unter gewissen Bedingungen erheblich gesteigert werden kann.

Von welcher ausschlaggebenden Bedeutung für den Desinfektionserfolg die *Dichte* der Suspension sein kann und wie geringfügig im Vergleich hierzu die absolute für Ein- und Aussaat zur Verwendung kommende Zahl lebender Keime ist, das läßt sich noch in anderer Weise gut demonstrieren. Verteilt man nämlich die gleiche Keimmenge auf eine kleine und eine größere Flüssigkeitsmenge, so ist die Desinfektionswirkung trotz gleicher Ein- und Aussaat, wie die folgenden beiden Ver

suche zeigen, keineswegs die gleiche, vielmehr in der dichteren Suspension deutlich schwächer.

Tabelle IX. 6. I. 22.
Bedeutung der Dichte der Keim-Suspension) für den Desinfektionserfolg. Staphylokokken. Temperatur 56°.*

Aussaat in Bouillon nach	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 0,5 ccm B. S. leb. (1:20) + 2,5 ccm steril. Leitungswasser	+	+	0(+)	0	0	0	0	0	0
b_1) 0,5 ccm B. S. leb. unvd. in 5 ccm steril. Leitungswasser + 55 ccm steril. Leitungswasser . . .	+	+	+	+	0	0	0	0	0
b_2) Einsaat = b_1	+	+	+	+	0	0	0	0	0
c) 0,5 ccm B. S. leb. unvd. + 2,5 ccm steril. Leitungswasser	++	++	+	+	+	0(+)	0	0	0

Bei a, b_1, c Aussaat = 1 Trpf., bei b_2 Aussaat = 1 ccm.

Die zur Aussaat für a, b_1, c benutzte Bouillon (10 ccm) war vor dem Versuch mit 1 ccm sterilem Leitungswasser versetzt worden, so daß die Konzentration der Bouillon nach der Aussaat überall die gleiche ist.

*) B. S. in steril. Leitungswasser.

Tabelle X. 26. I. 22.
Bedeutung der Dichte der Keim-Suspension) für den Desinfektionserfolg, Coli. Temperatur 60°.*

Aussaat in Bouillon nach	5′	10′	30′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 0,5 ccm B. S. leb. (1:20) + 2,5 ccm Aqua dest.	+	0(20)	0	0	0	0	0
b_1) 0,5 ccm B. S. leb. unvd. in 5 ccm Aqua dest. + 55 ccm Aqua dest.	+	0(20)	0	0	0	0	0
b_2) Einsaat = b_1	+	+	0	0	0	0	0
c) 0,5 ccm B. S. leb. unvd. + 2,5 ccm Aqua dest.	++	++	+	0	0	0	0

Bei a, b_1, c Aussaat = 1 Trpf., bei b_2 Aussaat = 1 ccm.
Vorbereitung der Bouillon zur Aussaat vgl. Tab. IX.

*) B. S. in Aq. dest.

In den Versuchen dieser Tabellen wurde eine wässerige Aufschwemmung von Coli bzw. Staphylokokken im Gefäß *a* in bezug auf ihre Hitzeresistenz verglichen mit einer 20fach größeren Keimmenge in den Gefäßen *b* und *c*. Während bei *c* diese größere Keimmenge in dem gleichen Volumen wie in *a* (3 ccm) enthalten war, wurde sie bei *b* auf eine Flüssigkeitsmenge verteilt, die 20 mal größer war als diejenige in *a* also in 60 ccm. Die zur Aussaat den Gefäßen *a* und *c* entnommene Menge betrug einen Tropfen, aus dem Gefäß *b* wurde sowohl 1 Tropfen wie gleichzeitig 1 ccm entnommen und ausgesät. Die Gefäße blieben bei der Entnahme im Wasserbade. Die Zugabe auf 40° erwärmter Bakteriensuspensionen zu den auf die Versuchstemperatur vorgewärmten Wassermengen in den Gefäßen *a*, *b* und *c* geschah so, daß die verschiedenen Flüssigkeiten möglichst gleichzeitig die erforderlichen Temperaturen wieder erreichten. Ein Maßstab hierfür wurde durch mehrere Kontrollversuche gewonnen,

auch wurde während des Versuchs selbst natürlich die Temperatur in den gleichen Bedingungen unterliegenden Kontrollgefäßen genau beobachtet. Trotz angewandter Versuchsmaßregeln erreichte die Temperatur in dem Gefäß *b* des Versuchs Tab. IX die Versuchstemperatur offenbar einige Minuten später, als dies bei *a* und *c* der Fall war, denn auch bei der kleinen Aussaat aus dem Gefäß *b* ist die Desinfektionswirkung schlechter; nur daraus erklärt sich die scheinbar etwas höhere Widerstandsfähigkeit der Staphylokokken in *b*.

Die beiden mitgeteilten Versuche zeigen übereinstimmend, daß schon eine 20fach größere Einsaat und Aussaat lebender Keime einen Einfluß auf das Abtötungsergebnis hat, aber nur dann, wenn die größere Einsaat in der gleichen Kubikeinheit der Suspensionsflüssigkeit enthalten ist wie die kleinere Einsaat.

Weiterhin schien eine Prüfung darüber von gewisser Bedeutung, ob etwa ähnlich wie abgetötete Bakterien beliebige chemisch indifferente Materialien im Hitzeversuch durch rein physikalische Wirkungen einen Einfluß auf den Ablauf des Abtötungsvorganges gewinnen könnten. Es erübrigt sich, genauer auf die einzelnen lediglich orientierenden und nicht in größerem Umfange angestellten Versuche einzugehen. Als Ergebnis mag nur kurz erwähnt werden, daß eine Wirkung auf den Desinfektionsvorgang bei Erhitzung weder durch Tierkohle, feingestoßenes Jenenser Glas noch durch Baumwollbatist nachzuweisen war, trotzdem das Material der Bakteriensuspension in sehr großer Menge zugegeben wurde.

II. Abtötung durch hohe Temperatur in Batistläppchenversuchen.

Ich habe nun ferner geprüft, wie sich der Abtötungsvorgang bei Verwendung verschieden starker Keimeinsaat in *Keimträgerversuchen* verhält.

Die Technik der nach dieser Richtung hin angestellten Versuche war folgende: Als Keimträger wurden 1 : 2 cm große Baumwollbatistläppchen benutzt, jedes Läppchen mit 1 Tropfen einer wässerigen Bakterienaufschwemmung (s. o.) benetzt, dann feucht oder nach 24stündigem Trocknen bei Zimmertemperatur in Wasser (2 ccm pro Läppchen) der Erhitzung ausgesetzt. Das Wasser befand sich in Glasgefäßen mit Glasdeckelverschluß, wie solche zum Färben von an Objektträgern fixierten Gewebsschnitten verwandt werden, und wurde vor dem Hineinlegen der infizierten Batistläppchen auf die erforderliche Temperatur vorgewärmt. In den an späterer Stelle zu erläuternden Keimträgerversuchen mit chemischen Desinfektionsmitteln (Kresol) blieben die Läppchen nach der Herausnahme aus dem Desinfiziens 20′ in einem schwach alkalischen Wasser, danach fand ein kurzes zweimaliges Auswaschen der Läppchen in gewöhnlichem destillierten Wasser statt. Zur Nachkultur diente in den Versuchen mit Hitze wie in den Kresolversuchen Bouillon, welche zu 10 ccm in Röhrchen gefüllt war.

Bei der *Prüfung der infizierten Baumwolläppchen* im Hitzeversuch trat nun die Verschiedenheit des Desinfektionsergebnisses nach der Größe der zur Beimpfung verwandten Menge lebender Keime zuweilen ziemlich stark hervor. Z. B. wurde im Versuch vom 15. II. 1922 eine



1 : 100 verdünnte Colisuspension an Läppchen angetrocknet durch eine Temperatur von 58° bereits nach 30 Minuten abgetötet, die konzentrierte angetrocknete Suspension erst nach 2 Stunden. Die Unterschiede sind hier aber wohl zum Teil dadurch zu erklären, daß, wie *Ficker* bezüglich der Choleravibrionen feststellen konnte, schon das Trocknen die Keime offenbar um so stärker schädigt, je dünner die Keimsuspension ist, die zum Austrocknen kommt. In einem anderen Versuch vom 4. II. 1922, in dem Staphylokokken in feuchtem Zustande am Läppchen geprüft wurden, war trotz der erheblich differierenden Einsaatmengen (konzentriert und 1 : 100 000!) der Unterschied nur gering. Es wurde nämlich die stark verdünnte Aufschwemmung nach 20 Minuten, die konzentrierte nach 45 Minuten abgetötet.

Also fallen bei Verwendung *feuchter Bakterienaufschwemmungen an Läppchen* die Differenzen fast völlig weg. Sie sind jedenfalls ganz erheblich geringer als die *in sehr dichten Suspensionen* hervortretenden Unterschiede und entsprechen im allgemeinen den geringen Differenzen bei verschieden großer Keimeinsaat in Versuchen mit *dünnen Keimaufschwemmungen.*

Dementsprechend gelang es im Gegensatz zu den Ergebnissen des Suspensionsversuchs im Batistläppchenversuch auch nicht durch Zugabe größerer Mengen abgetöteter Keime oder Bakterien einer anderen Art zu der für die Imprägnierung der Läppchen benutzten Keimaufschwemmung die Widerstandsfähigkeit dieser Keime gegen Erhitzung zu steigern. Jedenfalls konnte in den bereits zitierten Keimträgerversuchen vom 15. II. und 4. II. 1922 (Coli angetrocknet und Staphylokokken feucht) wie in einem Versuch vom 27. I. (Coli feucht) durch Zugabe abgetöteter Keime die Abtötungsdauer nicht hinausgeschoben werden, und in je zwei weiteren Versuchen mit angetrockneten und feuchten wässerigen Colisuspensionen fand die Abtötung der in einer größeren Menge Staphylokokken enthaltenen Colibakterien in der gleichen Zeit statt wie diejenige der gleichgroßen Colimenge ohne Staphylokokken.

Die Läppchenversuche sind also grundsätzlich anders ausgefallen als die Suspensionsversuche.

Nachdem die Bedingungen der Wirkung verschieden großer Keimeinsaaten gegenüber der *Hitzeschädigung* festgestellt waren, lag es nahe, diese Bedingungen auch in Versuchen mit *chemischen Desinfektionsmitteln* zu prüfen.

III. Kresolversuche.

Aus den wenigen Desinfektionsversuchen mit chemischen Mitteln nach der Suspensions- und Batistläppchenmethode — es wurde bisher lediglich die Wirkung von Kresolum crudum gegenüber Staphylokokken und Coli geprüft — habe ich ein abschließendes Urteil noch nicht ge-



winnen können. Trotzdem scheint mir als Ergänzung der mitgeteilten Untersuchungen eine kurze Besprechung auch dieser Versuche von Interesse, und zwar erstens wegen gewisser sich augenscheinlich ergebender *Parallelen* zwischen den beiden Gruppen von Versuchen, zweitens in Hinblick auf andere in charakteristischer Weise von den Ergebnissen der Hitzeversuche *abweichende* Resultate dieser Kresolversuche. Einige Kresolversuche seien im folgenden wiedergegeben.

Tabelle XI. 11. I. 22.

Resistenzbeeinflussung von Coli in Suspension) durch Zugabe größerer Mengen abgetöteter Keime gegenüber Kresol. crud.*

Aussaat auf Schrägagar nach		3′	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	4 Std.	24 Std.
a) 3 Trpf. B. S. leb. unvd. in 6 ccm Desinfiziens	0,5 %	++	+	2(+)	1(+)	0(+)	0	0	0	0	0
	0,35 %	·	++	++	++	+	+	+	+	0	0
b) 3 Trpf. B. S. leb. unvd. in 5 ccm Desinfiziens + 1 ccm B. S. abget.**) unvd.	0,5 %	++	+	+	20	1(+)	0(+)	0(+)	0	0	0
	0,35 %	·	++	++	++	++	++	++	+	+	0

*) Coliaufschwemmung in Aqua dest.
**) Abtötung durch 60 % Alkohol 1 Std.

Tabelle XII. 20. XII. 21.

Große und kleine Einsaatmenge (mit und ohne Zusatz abgetöteter Keime) im Kresolversuch mit Staphylokokken, Suspension).*

Aussaat auf Schrägagar nach		3′	5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.	24 Std.
a) 3 Trpf. B. S. leb. in 6 ccm Desinfiziens .	0,5 %	+	0(+)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,35 %	·	++	++	++	++	+	+	1(+)	0	0	0
b) 1 ccm B. S. leb. + 5 ccm Desinfiziens .	0,5 %	++	++	+	30	0	0	0	0	0	0	0
	0,35 %	·	++	++	++	++	++	++	++	++	+	0
c) 3 Trpf. B. S. leb. in 1 ccm B. S. abget. + 5 ccm Desinfiziens	0,5 %	++	++	+	18	0	0	0	0	0	0	0
	0,35 %	·	++	++	++	++	++	++	++	+	+	0

*) In steril. Leitungswasser.

Tabelle XIII. 27. I. 22.

Große und kleine Einsaatmenge im Kresolversuch mit Staphylokokken an Batistläppchen) (feucht).*

Aussaat in 10 ccm Bouillon		5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	3½ Std.	24 Std.
a) B.S. leb. (1:100) in Aqua dest. . . .	0,5 %	+	+	0(+)	0(+)	0	0	0	0	0	·
	0,35%	·	·	·	+	+	+	+	0(+)	0	0
b) B.S. leb. (1:100) in B.S. abget. unvd. .	0,5 %	·	0(+)	+	+	0	0(+)	0	0	0	·
	0,35%	·	·	·	·	·	+	+	0(+)	+	0

*) Pro Läppchen 2 ccm. Desinficiens Staphylok.-Aufschw. in Aqua dest.



Tabelle XIV. 15. II. 22.

Große und kleine Einsaatmenge im Kresolversuch mit Coli an Batistläppchen [angetrocknet)].*

Aussaat in 10 ccm Bouillon		5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) B.S. leb. (1 : 100)	0,5 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,35%	·	·	0	0	0	0	0	0	0
b) B.S. leb. unvd.	0,5 %	+	+	+	0	0	0	0	0	0
	0,35%	·	·	+	+	+	+	+	0	0
c) B.S. leb. (1 : 100) in B.S. abget. unvd.	0,5 %	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,35%	·	·	+	0(+)	+	+	0	0	0

*) Coliaufschwemmung in Aqua dest.

Tabelle XV. 22. I. 22.

Resistenzbeeinflussung von Coli durch Staphylokokken im Kresolversuch an Batistläppchen [angetrocknet)].*

Aussaat in 10 ccm Bouillon		5′	10′	20′	30′	60′	2 Std.	4 Std.
a) Coli B.S. leb. (1 : 100)	0,5 %	0	0	0	0	0	0	0
	0,35%	+	+	0	0	0	0	0
b) Coli B.S. leb. unvd.	0,5 %	+	+	0 (+)	0	0	0	0
	0,35%	+	+	+	+	+	+	0
c) Coli B.S. leb. (1 : 100) in Staphyl. B.S. leb. unvd.	0,5 %	+	+	+	+	+	0	0
		Coli: +	Coli: 0					
	0,35%	+	+	+	+	+	+	+
		Coli: +	Coli: +	Coli: +	Coli: 0			

*) Coliaufschwemmung in Aqua dest.

Allen Versuchen gemeinsam ist die Erscheinung der künstlichen Resistenzsteigerung von Staphylokokken und Coli gegen die Kresolwirkung durch Zugabe sehr großer Mengen abgetöteter Bakterien bzw. lebender einer anderen Art. Dieselbe ist deutlich nachweisbar *trotz der relativ geringen Unterschiede der Keimmengen,* und zwar sowohl in den Suspensions- wie in den Keimträgerversuchen. Im Suspensionsversuch der Tab. XII tritt ein Unterschied der Wirkung abgetöteter Keime gegenüber dem Erfolg großer Einsaat lebender Keime überhaupt nicht hervor. Würde man die Differenzen der Einsaatmenge größer wählen, so wäre höchstwahrscheinlich wie in den Hitzeversuchen das kleine der Einsaat großer Menge lebender Keime entsprechende Plus der Desinfektionsabchwächung auch hier nachweisbar.

Wenn in Keimträgerversuchen mit Kresol (Tab. XIII—XV) die Zugabe abgetöteter Bakterien bzw. von Bakterien einer anderen Art ähnliche resistenzsteigernde Wirkung hat wie im Suspensionsversuch, während dies an den Hitzeversuchen mit Keimträgern nicht hervortritt, so kann die Erscheinung verursacht sein durch besondere, lediglich in Versuchen mit chemischen Mitteln wirkende Bedingungen z. B. Ad-



sorption des Desinfiziens durch die große Menge der Bakterienleiber und die damit verbundene Konzentrationsabschwächung des Desinfektionsmittels (*Hailer* u. a.). Es ist aber auch möglich, daß die Entfernung der in der Aufschwemmungsflüssigkeit sich lösenden resistenzsteigernden Bakterienstoffe aus den Läppchen in der erwärmten Flüssigkeit sich rascher vollzieht als im Kresolversuch, und daß aus diesem Grunde eine Wirkung solcher Stoffe beim Hitzeabtötungsversuch an Läppchen nicht zur Geltung kommt. Jedenfalls sind die Bedingungen in Keimträgerversuchen mit Kresol wesentlich komplizierter als die der Hitzeversuche und können mit diesen keineswegs ohne weiteres in Parallele gesetzt werden.

Es seien an dieser Stelle noch zwei Versuche aufgeführt: Tab. XVI und XVII, deren Besprechung in den Schlußbemerkungen erfolgen wird.

Tabelle XVI. 18. II. 1922.
Einfluß unbekaunter Faktoren (Luft?) auf Bakterien-Desinfektionsmittelmischungen. Kresolum crud., Staphylokokken.

Aussaat auf Schrägagar nach		5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	4 Std.
a) 20 ccm in flacher Schale	0,5 %	+	20	4 (+)	1 (+)	0	0	0	0
	0,35 %	++	++	++	++	++	+	3(+)	0
b) 20 ccm in geschlossenem	0,5 %	10	(+)	(1)	0	0	0	0	0
Reagensglas	0,35 %	++	++	+	20	(+)	(+)	0	0

Einsaat: 1 Trpf. B. S. pro 1 ccm. Desinfiziensbakterienaufschwemmung und Desinfektionsmittelverdünnung in nicht abgekochtem Leitungswasser.

Tabelle XVII. 21. II. 1922.
Einfluß unbekannter Faktoren (Luft?) auf Bakterien-Desinfektionsmittelmischungen. Kresol crud. Coli.

Aussaat auf Schrägagar nach		5′	10′	20′	30′	45′	60′	2 Std.	3 Std.	4 Std.
a) 20 ccm in offener flach.	0,5 %	+	+	+	+	+	±(+)	0	0	0
Schale	0,35%	++	++	++	++	+	+	+	10	0
b) 20 ccm in geschlosse-	0,5 %	+	+	+	±(+)	0	0	0	0	0
nem Reagensröhrchen	0,35%	++	++	++	++	+	+	20	0	0
c) Wie unter b, Röhrchen	0,5 %	+	+	+	±(+)	0	0	0	0	0
aus Jenenser Glas . .	0,35%	++	++	++	++	+	+	10	0	0

Einsaat 1 Trpf. B. S. pro 1 ccm. Desinfiziensbakterienaufschwemmung und Desinfektionsmittelverdünnung in Aqua dest.

Ergebnisse.

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich eine kritische Übersicht geben über die wichtigsten Ergebnisse meiner Untersuchungen und versuchen, die Schlußfolgerungen zu ziehen, die sich aus ihnen für die Theorie und die Praxis der Desinfektion ergeben. Was ergibt sich zunächst aus den Hitzeabtötungsversuchen? Wie wir gesehen haben, verlängert sich die Abtötungszeit der Keime im Desinfektionsversuch bei verschieden



großer Keimeinsaat keineswegs durchgehend in dem gleichen Maße, wie die Einsaatmenge wächst. Eine solche Beziehung ist vielmehr angedeutet *nur bei Verwendung stark verdünnter Bakterienaufschwemmungen* bzw. im Batistläppchenversuch, soweit die Bedingungen wie in den wiedergegebenen Versuchen gewählt werden, d. h. Beimpfung der Läppchen mit je 1 Tropfen Bakterienemulsion und Verwendung von 2 ccm pro Läppchen. Hier wächst die Abtötungszeit anscheinend einigermaßen gleichmäßig, und zwar um einen sehr geringen Betrag, wenn die Einsaat (und dementsprechend die Aussaat) erheblich gesteigert wird. *Bei Verwendung sehr dichter Keimaufschwemmungen*, nämlich Einsaat über 1 Tropfen pro Kubikzentimeter, *wird der Desinfektionserfolg dagegen in viel höherem Grade verschlechtert, als dies in Abhängigkeit von der Größe der Einsaat nach den Versuchen mit verdünnten Suspensionen zu erwarten wäre.* Das spricht schon für sich unbedingt dagegen, daß der Desinfektionserfolg lediglich durch die *geringere oder höhere Resistenz* der verimpften Keimindividuen bedingt sei. Wäre letzteres der Fall, so müßte die Abschwächung der Desinfektionswirkung in annähernd *gleichem Ausmaße* in dichten wie in dünnen Suspensionen hervortreten. Nun konnte ich zeigen, daß wohl eine ähnliche, wenn auch fast stets etwas schwächere Wirkung in dichten Suspensionen sich durch *Zusatz abgetöteter Keime bzw. von lebenden Keimen einer anderen schwächer resistenten Art* erzielen läßt, zum mindesten bis zu dieser Höhe darf also die Wirkung der größeren Einsaat lebender Keime nicht mit einer Verschiedenheit der natürlichen Resistenz der eingeimpften Bakterien in Zusammenhang gebracht werden. Für *diese* Wirkungen muß vielmehr eine künstliche Resistenzsteigerung der Keime durch andere Einflüsse zum größten Teil wohl durch gelöste Bakterienstoffe angenommen werden. Eine solche künstliche Resistenzsteigerung kann, wie gezeigt wurde, in *wässerigen* Suspensionen von Bakterien *hohe Werte* erreichen, sie fehlt indessen auch nicht in nährstoffreichen den Bakterien günstige Bedingungen bietenden Medien. Das auffallend starke Hervortreten solcher Wirkungen in Wasser, also in einem chemisch und physikalisch von der Bakterienkultur stark abweichenden Milieu, ihre erhebliche Verminderung in nährstoffreichen Flüssigkeiten läßt daran denken, daß diese resistenzsteigernden Stoffe hauptsächlich ihre Eigenschaft der Fähigkeit verdanken, den Bakterien durch Ausschaltung der Schädigung des Milieus günstigere Lebensbedingungen zu schaffen, mögen nun hierbei aus der Kultur mitübertragene Nährstoffe des Nährbodens oder Nährstoffe den Bakterienleibern entstammend oder das eine wie das andere wirksam sein, Momente also, auf deren Bedeutung u. a. schon *Ficker* hingewiesen hat. Andererseits spricht die Tatsache, daß sich derartige resistenzsteigernde Wirkungen auch in guten Nährmedien geltend machen, dafür, daß solche die Schädigung des Nährstoffmangels oder die mit der

Herstellung der wässerigen Bakterienaufschwemmungen verbundene jähe Verminderung des osmotischen Druckes aufhebende Momente bei dem erwähnten Vorgange nicht *ausschließlich* in Betracht kommen.

Einige von mir angestellte Versuche mit Filtraten wässeriger lebender und abgetöteter Keimaufschwemmungen einerseits mit abgetöteten ausgewaschenen Bakterien andererseits sprechen dafür, daß den von anhaftendem Nährmaterial befreiten Bakterienleibern selbst bzw. ihren nicht filtrierbaren Produkten die Eigenschaft zukommt, unter gewissen Bedingungen die Widerstandsfähigkeit lebender Keime zu erhöhen. Dichte wässerige Bakterienaufschwemmungen wurden durch Tonkerzen filtriert; das Filtrat wirkte nur in Wasser, nicht in Bouillon resistenzsteigernd. Dagegen wirkten die durch Hitze abgetöteten dann mehrmals mit destilliertem Wasser ausgewaschenen Bakterien auch in Bouillon deutlich widerstandserhöhend.

Die Möglichkeit, daß es sich bei den erwähnten Erscheinungen um *rein physikalische* Wirkungen der Bakterien handelt, muß in Betracht gezogen werden. Solche rein physikalischen Wirkungen sind mir aber nicht wahrscheinlich. Dagegen spricht, glaube ich, vor allem die aus den oben kurz zitierten Versuchen gewonnene Beobachtung des Fehlens dieser Wirkungen bei Verwendung abgetöteter *älterer* Bakterienkulturen. Die zwischen Bakterien junger und alter Kulturen hervortretenden Differenzen können wohl kaum physikalischer Natur sein. Mehr einleuchtend ist die Erklärung, daß die an die Suspensionsflüssigkeit abgegebenen löslichen Stoffe aus den Bakterien frisch abgetöteter Kulturen andere sind als diejenigen alter Kulturen. Auch das Ausbleiben der resistenzsteigernden Wirkung in sehr dicht beimpften Batistläppchen wird leichter verständlich, wenn angenommen wird, daß es sich um *gelöste Bakterienprodukte* handelt. Derartige Produkte werden natürlich in dem die Läppchen enthaltenden Medium eine starke Verdünnung erfahren und dadurch an Wirksamkeit einbüßen müssen. Allerdings könnte wohl auch eine physikalische Wirkung der Bakterienleiber selbst durch die etwa sich geltend machende physikalische Struktur des Keimträgers aufgehoben werden.

Nun haben wir durch die Untersuchungen von *Eijkman*[7]), *Rahn*[18]) u. a. Bakterienstoffe kennengelernt, die in den Bakterienkulturen auftreten und teils entwicklungsfördernde, teils entwicklungshemmende Wirkungen auszuüben vermögen. Es liegt nahe, solche entwicklungsfördernde Stoffwechselprodukte auch für die Erscheinungen der künstlichen Resistenzsteigerung der Keime in dichten Keimaufschwemmungen verantwortlich zu machen.

Ich habe zeigen können, wie auch in diesen dichten Suspensionen die Heranziehung größerer Mengen *lebender Keime* nicht selten noch einen deutlich stärkeren Effekt auf den Abtötungsverlauf im Sinne



einer Verzögerung desselben ausübt als die Zugabe gleich großer Mengen *abgetöteter* Bakterien. Ferner tritt entsprechend der größeren Keimeinsaat *auch in stark verdünnten* Bakteriensuspensionen stets ein gewisser Einfluß auf den Desinfektionserfolg in gleichem Sinne hervor. Dieser Einfluß der quantitativen Verhältnisse ist auch in den Versuchen mit Batistläppchen sichtbar. Er ist in der Regel nur gering und erst deutlich bei Verwendung quantitativ sehr erheblich differierender Einsaatmengen.

Wir können also neben den bereits geschilderten auch durch abgetötete Keime auslösbaren Wirkungen bei Benutzung sehr dichter Suspensionen in allen Versuchen noch Wirkungen beobachten, die offenbar *lediglich durch die Quantität der Keimeinsaat* bedingt sind.

Wie ist nun *diese* Abschwächung der Desinfektionswirkung bei größerer Keimeinsaat zu erklären? Handelt es sich vielleicht wenigstens *hierbei* um natürliche Resistenzverschiedenheiten der verimpften Keime?

Aus meinen Untersuchungen habe ich die Überzeugung gewonnen, *daß die Erklärung Reichenbachs, welche bei der Deutung der Erscheinungen in sehr dichten Suspensionen gänzlich versagt, auch für diese Vorgänge nicht unbeschränkt richtig ist, daß Beobachtungen der Absterbebedingungen wie die vorliegenden vielmehr aus verschiedenen Ursachen erklärt werden müssen.*

Gewiß spielen höchstwahrscheinlich Resistenzverschiedenheiten der Keime bei der ungleichen Abtötungszeit der Bakterien unter der Einwirkung beliebiger Schädigungen bis zu einem bestimmten Grade eine Rolle. Die Keime in ein und derselben Kultur unterliegen ja niemals den gleichen Bedingungen. Neben lebensfrischen Individuen wird sich in der Kultur stets eine größere Zahl von im Absterben begriffener Keime vorfinden. Es erscheint allerdings zweifelhaft, ob man überhaupt, wie *Reichenbach* dies tut, zwischen der in der Kultur vorhandenen und der im Desinfektionsversuch sich geltend machenden Resistenz eine Parallele ziehen darf.

Nach allen einschlägigen Erfahrungen darf kaum erwartet werden, daß die unter den Bedingungen der *Kultur* widerstandsfähigsten Keime auch unter den *gänzlich anders gearteten des bei der Desinfektion angewandten Milieus* eine besonders hohe Widerstandsfähigkeit zeigen. Von mindestens gleicher Bedeutung für die Absterbebedingungen der Bakterien während der Desinfektion als ihre in der Kultur vorhandene Resistenz wird ihre Fähigkeit sein, sich bei der Übertragung in das neue Medium den veränderten sehr ungünstigen Bedingungen anzupassen.

Vielleicht werden an trockene Teile des Nährbodens angepaßte Keime im allgemeinen dem Austrocknen auch außerhalb des Nährbodens größeren Widerstand entgegensetzen als solche, die in feuchten Teilen der Kultur gewachsen sind. Bakterien, die in der Kultur ge-



zwungen waren, mit einem Minimum von Nährstoffen auszukommen, werden der gänzlichen Entziehung der Nährstoffe längere Zeit hindurch widerstehen als an reichliche Nährstoffzufuhr gewöhnte Bakterien. Die Sauerstoffentziehung wird möglicherweise in geringstem Grade diejenigen Keime schädigen, die sich bereits in der Kultur einer sauerstoffarmen Umgebung haben anpassen können usw. Bekanntlich kommen daneben bei einem Wechsel des Milieus ganz unberechenbare Veränderungen der Keime vor.

Wir können also wohl von Resistenzverschiedenheiten der Bakterien dem Desinfiziens gegenüber sprechen, müssen uns dabei aber vergegenwärtigen, daß die Resistenz in hohem Grade von den jeweilig im Desinfektionsversuch gegebenen besonderen Bedingungen abhängig ist.

Nun darf aber meines Erachtens ein anderer Faktor nicht außer acht gelassen werden, der für sich imstande ist, den Verlauf der Abtötung unter einer Schädigung in entscheidender Weise zu beeinflussen: Der *verschiedene Grad der Einwirkung eines schädigenden Mittels* auf die einzelnen Keime in ein und demselben Desinfektionsversuch. Die Voraussetzung, die *Reichenbach* bei der Beurteilung der Absterbeordnung der Keime macht, dürfte kaum jemals zutreffen. Selbst bei der technisch vollkommensten Versuchsanordnung dürfen wir nicht, wie *Reichenbach* annimmt, erwarten, *daß mit dem Beginn der Desinfektion sämtliche Keime der Schädigung in gleichem Maße unterliegen.* Die Lebensbedingungen werden im Milieu des Desinfektionsversuchs ebensowenig die gleichen sein für alle Bakterien wie in der Kultur oder unter natürlichen Verhältnissen.

Die Beeinflussung der Lebensdauer der Keime während der Desinfektion *durch ein bisher nicht beachtetes Moment* habe ich experimentell geprüft. Ich konnte nachweisen, daß der Desinfektionserfolg des Kresols verschlechtert wird, wenn die Bakteriendesinfektionsmittelmischung anstatt in *geschlossenen Reagensröhrchen* sich in *offenen flachen Schalen* befindet. Die beiden an früherer Stelle wiedergegebenen Versuche (Tab. XVI und XVII), welche übereinstimmend diese Verschlechterung der Desinfektion in offenen Gefäßen erkennen lassen, sind vorläufig am leichtesten daraus zu erklären, daß die jeweilig in der Desinfektionsflüssigkeit *der Luft ausgesetzten* Keime eine höhere Widerstandsfähigkeit besitzen als die übrigen.

Neben der umfangreichen oder geringeren Berührung der Keime mit der Luft mögen noch ungleichmäßige Bewegungen der Desinfektionsflüssigkeit, ein Zusammenballen der Keime, Anhaften an der Glaswand für den Ausfall der Desinfektion von gewisser Bedeutung sein. Von der Glaswand abgegebenes Alkali, das, wie *Ficker* für Choleravibrionen nachwies, resistenzsteigernd wirken kann, scheint bei anderen Bakterien z. B. Coli keine beachtenswerte Rolle zu spielen; jedenfalls konnte ein



solcher Effekt im Versuch der Tab. XVII nicht nachgewiesen werden.

Also schon im Beginn des Versuchs sind die Bakterien nicht alle der Schädigung gegenüber gleich gerüstet, andererseits solchen Schädigungen auch offenbar in verschiedenem Grade ausgesetzt. Wie die Dinge sich *im weiteren Verlauf* der Desinfektion gestalten, ist ganz ungewiß. Sicher scheint nur, daß weder die Bakterien in ihren Eigenschaften gleichbleiben, noch daß die bestimmte Schädigung zu jeder beliebigen Zeit in gleicher Stärke wirkt.

Jedenfalls wird stets ein Teil der Bakterien bei der Desinfektion durch die erwähnten Umstände *schneller*, ein anderer *langsamer* abgetötet werden. Je *größer* nun die *Einsaat* der Keime gewählt wird, *um so größere Aussicht* besteht, daß *sich gewisse resistenzsteigernde Bedingungen* innerhalb der schädigenden Wirkung *an einer größeren Zahl von Keimen geltend machen*; je *größer* die *Aussaat*, um so wahrscheinlicher wird es, daß *derart überlebende Keime erfaßt und der Nachkultur zugeführt* werden. Hieraus sind die Differenzen des Desinfektionserfolges bei variierender Keimmenge in den Hitzeversuchen mit *dünnen* Keimaufschwemmungen und mit Batistläppchen genügend erklärt. Natürlich macht sich dasselbe Moment in gleichem Sinne auch in allen anderen Versuchen neben den bereits besprochenen Faktoren geltend.

Wer könnte angesichts der das Überleben bedingenden komplizierten Ursachen dem letztabgetöteten Keim wohl ansehen, welcher Ursache er seine lange Lebensfähigkeit zu danken hat?

Wieweit die in den *Versuchen mit Kresol* beobachteten Wirkungen den im *Hitzeversuch* erscheinenden analog sind, ist schwer zu entscheiden. Hier sind die Verhältnisse entschieden verwickelter. Wir wissen, daß bei Verwendung der meisten chemischen Mittel durch gewisse Stoffe z. B. Eiweiß eine Abschwächung der Desinfizientien stattfindet, welche auf eine Veränderung der Konstitution der chemischen Mittel zurückzuführen ist (z. B. Verminderung der Metallionenkonzentration der Metallsalze in eiweißhaltigen Bakteriensuspensionen). Auch große Bakterienmassen haben möglicherweise eine Veränderung des Desinfiziens selbst in irgendeiner Art zur Folge, wahrscheinlich dadurch, daß die Konzentration des Desinfiziens infolge teilweiser Adsorption desselben durch größere Massen von Bakterien vermindert wird (*Hailer* u. a.), worauf bereits hingewiesen wurde. Es ist also wohl denkbar, daß die beschriebenen Wirkungen im Kresolversuch bei großer Keimeinsaat sich zum Teil aus einer die Desinfektion abschwächenden Veränderung des Desinfiziens selbst erklären.

Im Hitzeversuch kann aber doch von einer Veränderung der schädigenden hohen Temperatur an sich durch Bakterien gar keine Rede sein, und doch sehen wir unter bestimmten Bedingungen durch große Bakterieneinsaat die Wirkung dieser hohen Temperatur herabgesetzt.



Es muß also wohl damit gerechnet werden, daß im Kresolversuch *gleiche oder ähnliche Ursachen*, nämlich Wirkungen auf die Keime selbst bzw. auf das zur Aufschwemmung benutzte Milieu unabhängig von dem zugefügten chemischen Desinfiziens das Resultat der Abtötung zu beeinflussen vermögen. Im besonderen kann eine Aufhebung der durch den Wechsel des Milieus (Übertragung in Wasser!) bedingten Schädigungen der Bakterien doch auch in Versuchen mit chemischen Desinfektionsmitteln eine wichtige Rolle spielen.

Welche *Schlußfolgerungen* können aus dem Ergebnis der mitgeteilten Untersuchungen *für die Praxis der Desinfektionsversuche* gezogen werden?

Eins geht mit Sicherheit aus den Beobachtungen mit sehr dichten Keimaufschwemmungen hervor: Die Verwendung solcher Keimeinsaaten im Suspensionsversuch, die eine deutliche milchige Trübung der Suspensionsflüssigkeit verursachen, aber auch sehr dichter Keimaufschwemmungen im Keimträgerversuch hat nicht nur *keinen Vorteil, sondern erhebliche Nachteile*, da durch die künstliche Resistenzsteigerung der Keime infolge Anhäufung gewisser Bakterienstoffe in so dichten Suspensionen bzw. Konzentrationsverminderung des Desinfiziens infolge Adsorption an die Bakterien *eine zu hohe Widerstandsfähigkeit der Keime bzw. eine schlechte Wirkung des Desinfiziens vorgetäuscht wird*, die der Wirklichkeit nicht entspricht. In Suspensionsversuchen im besonderen müssen alle derartigen, die Desinfektion störenden, von Zufälligkeiten abhängigen Bedingungen unter allen Umständen ausgeschaltet werden, wenn anders wir exakte und miteinander vergleichbare Werte der Wirkung verschiedener Mittel erhalten wollen. Soll für praktische Zwecke die Wirkung eines Mittels auf außerordentlich keimhaltige Medien z. B. Stuhl geprüft werden, mag ein Versuch mit massiver Bakterieneinsaat mit Vorteil zur Ergänzung herangezogen werden, dann wird es vor allem aber notwendig sein, die Versuchsbedingungen auch sonst der Praxis des besonderen Falles anzupassen.

Nach meinen Erfahrungen dürfte als *Maximum der Einsaat* bei Suspensionsversuchen nur die Verimpfung eines Tropfens einer dichten Bakterienaufschwemmung auf einige Kubikzentimeter der Suspensionsflüssigkeit, für Batistläppchen die Beimpfung je eines Läppchens mit einem Tropfen gleichstarker Bakterienaufschwemmung und Verwendung einiger Kubikzentimeter Desinfektionsflüssigkeit pro Läppchen Anwendung finden. Doch kann auch jede beliebige kleinere Einsaat gewählt werden, welche den Bedingungen der Praxis ungefähr entspricht. Größere Einsaaten haben kleineren gegenüber in den angegebenen Grenzen keine Vorteile, da die geringe Abschwächung des Desinfektionserfolges bei größerer Keimeinsaat, wie die Ausführungen dargetan haben, nur zum Teil von gewissen Resistenzverschiedenheiten der Keime,



daneben noch von manchen anderen, an die Versuchsbedingungen geknüpften Zufälligkeiten abhängig ist. Um möglichst exakte und vergleichbare Werte nach dem Suspensions- oder Keimträgerverfahren zu erhalten, muß *lediglich die Gleichmäßigkeit der einmal als Testmenge gewählten Bakterienmenge in allen Versuchen — diese aber unbedingt gefordert werden.*

Literaturverzeichnis.

[1]) *Behring*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **9**, 395. 1890. — [2]) *Behring*, Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Leipzig 1894. S. 44. — [3]) *Boer*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektiontionskrankh. **9**, 479. 1891. — [4]) *Chick* und *Martin*, Americ. journ. of hyg. **8**, Nr. 5, S. 654. 1908. — [5]) *Dengler*, Hyg. Rundsch. **28**, H. 1 u. 2. 1918. — [6]) *Eijkman*, Biochem. Zeitschr. **11**, S. 12. 1908. — [7]) *Eijkman*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **41**, H. 3, S. 367. — [8]) *Eijkman*, Folia Microbiol. **1**, H. 4. S. 24. 1912. — [9]) *Eisenberg*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **48**, 187. — [10]) *Ficker*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **29**, 1. 1898. — [11]) *Geppert*, Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 25, S. 718. 1891. — [12]) *Gruber*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Ref. **11**, 115. 1892. — [13]) *Hailer*, Arb. a. d. Reichs-Gesundheitsamte **36**, 328. 1911. — [14]) *Hailer*, Arb. a. d. Reichs-Gesundheitsamte **52**, IV. Mittlg., S. 706, 1920. — [15]) *Hailer*, Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 46, S. 1384. 1921. — [16]) *Krönig* und *Paul*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **25**, 1. 1897. — [17]) *v. Lingelsheim*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **37**, 131. 1901. — [18]) *Rahn*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Ref. **16**, 14 bis 16, 417—609. 1906. — [19]) *Reichel*, Biochem. Zeitschr. 1909, S. 149. — [20]) *Reichenbach*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **69**, 171. 1911. — [21]) *Süpfle*, Zeitschrift f. Hyg. u. Infektionskrankh. **95**, H. 3, S. 370. 1922.



(Aus der Serologischen Abteilung des Institutes für Infektionskrankheiten „*Robert Koch*". [Abteilungsdirektor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. *R. Otto*].)

Beiträge zum d'Hérelleschen Phänomen.

Von

R. Otto, H. Munter und **W. F. Winkler.**

Mit 5 Textabbildungen.

D'Hérelle beschrieb im Jahre 1917 das folgende Phänomen: Gewann er von den dünnflüssigen Dejekten (bei fester Konsistenz nach Verdünnung mit Bouillon oder Kochsalzlösung) Ruhrkranker Filtrate mittels Bakterienfilter, so wirkten diese Filtrate wachstumhemmend und bakterienauflösend. Die Bactericidie wuchs, wenn die Faeces vor dem Filtrieren 24 Stunden bei 37° gehalten waren. Der Nachweis des bakterienauflösenden Agens ließ sich leicht führen.

Tat man z. B. zu 1 ccm solchen Filtrates 1 Tropfen einer 24 Stunden alten Bouillonkultur oder eine kleine Spur einer jungen Plattenkultur des betreffenden Bacteriums, so hellte sich das durch die Beimpfung getrübte Filtrat, wenn es erst ca. 12—18 Stunden bei 22°, daran anschließend 2—3 Stunden bei 37° gehalten wurde, völlig auf, während das Kontrollröhrchen, in dem sich an Stelle des Virus reine Bouillon befand, eine starke Trübung zeigte. *D'Hérelle* schloß aus seinen Versuchen, daß bei der bacillären Dysenterie neben der antitoxischen Immunität — als Reaktion des befallenen Organismus gegen die Bakteriengifte — ein gegen die Bakterien selbst gerichteter Schutz bestände, erzeugt durch einen, zur Zeit der Abheilung spezifisch eingestellten „bacteriophagen" Mikroben. Hatte er auch zuerst seine Versuche nur an den Stuhlfiltraten von Ruhrkranken angestellt, so sprach er doch schon in dieser ersten Arbeit auf Grund von zwei positiven Ergebnissen bei Paratyphuserkrankungen sich dahin aus, daß diesem invisiblen Mikroben auch bei vielen anderen Erkrankungen eine wichtige Rolle zukommen müsse.

D'Hérelle nahm an, daß man in den, wie oben beschrieben, geklärten Röhrchen eine Reinkultur des Bakteriophagen („Bacteriophagum intestinale") in Händen habe. War die Wirksamkeit des Filtrates weniger stark, so trat an Stelle der völligen Klärung der Bacillen nur eine teilweise Aufhellung ein, d. h. es blieb ein Teil der eingesäten Bakterien am Leben, die sich nach gewisser Zeit wieder so stark vermehren konnten, daß ein Unterschied gegenüber dem Kontrollröhrchen nicht mehr nachzuweisen war. Fehlte in dem Stuhlfiltrat ein wirksames Agens, so bestand von vornherein kein Unterschied gegenüber dem Kontrollröhrchen.

Diese selben drei Wirkungsgrade ließen sich auch auf festen Nährböden demonstrieren. Beimpfte er ein Schrägagarröhrchen mit Shigakultur und ließ dann, unmittelbar nach der Beimpfung, einen Tropfen Filtrat über die frisch beimpften Stellen laufen, so zeigten sich bei starker Virulenz des Virus keine oder nur wenige Shigakolonien; bei schwacher Virulenz blieben in dem gut gewachsenen Shigarasen einzelne Stellen völlig „steril", d. h. es fanden sich scharf ausgestanzte



Löcher, an denen der Agar nicht das geringste Bakterienwachstum zeigte („tâches vièrges"). Und schließlich, bei völligem Fehlen des Virus im Stuhlfiltrat, ließ sich kein Unterschied den Kontrollen gegenüber nachweisen.

Die Größe des „Bacteriophagum intestinale" liegt nach *d'Hérelle* unter der eines Eiweißmoleküls.

Das Phänomen der Bakterienauflösung ließ sich serienweise fortführen. Man brauchte nur 1 Öse der durch das Stuhlfiltrat geklärten Bacillenaufschwemmung zu einer frischen Bacillenaufschwemmung dazuzugeben, um das Phänomen von neuem zu erhalten. Über viele Tausende von „Passagen" konnte die Viruswirkung erhalten bleiben, ja in der ersten Zeit nimmt die Bactericidie sogar an Stärke zu.

Auf die ersten Arbeiten *d'Hérelles* folgte bald die Bestätigung durch zahlreiche andere Autoren, doch entspann sich ein lebhafter Streit, wie die lytische Wirkung der Stuhlfiltrate und die Vermehrungsfähigkeit des wirksamen Agens zu erklären ist. An der Wirkung des Virus, selbst in Verdünnungen, wie man sie bei anderen bactericiden Stoffen nicht kennt, wird von keinem der Autoren gezweifelt. Gleich die ersten Nachuntersucher, wir wollen hier nur die wichtigsten nennen, stellen aber das Vorhandensein eines lebenden Virus, eines Mikroorganismus, entschieden in Abrede. Vor allem sind es *Kabéshima* sowie *Bordet* und *Ciuca*, die einen von *d'Hérelle* abweichenden Standpunkt einnehmen. *Kabéshima* begründet dies u. a. mit der Tatsache, daß der von *d'Hérelle* beschriebene Bacteriophage bereits in minimalen Mengen wirksam ist, und aus dem Umstande, daß er seine Wirksamkeit erst bei 75° Erwärmung verliert, während er selbst 10 maliges Erwärmen auf 60—70° anstandslos verträgt. (Heubacillensporen gingen demgegenüber schon nach 2—3 maliger Erhitzung auf diese Temperatur zugrunde.) *Kabéshima* nimmt deshalb an, daß der Bacteriophage kein lebendes Virus, sondern ein im Körper des Kranken gebildeter Katalysator ist, unter dessen Einfluß die sich auflösenden Bacillen eine Art Ferment produzieren, das bei der neuen Bakteriengeneration seinerseits die Rolle des Katalysators übernimmt. Eine Stütze seiner Ansicht über die Fermentnatur des Bacteriophagen sieht *Kabéshima* in dem Verhalten desselben gegenüber chemischen Reagenzien: Die Bacteriolyse soll nämlich auch in Gegenwart von Chloroform und Fluornatrium vor sich gehen.

Auch *Bordet* und *Ciuca* wenden sich gegen die *d'Hérelle*sche Anschauung von einem belebten Virus auf Grund folgender Tierexperimente:

Es gelang ihnen, durch mehrmalige intraperitoneale Injektion von lebenden Colibacillen beim Meerschweinchen in dem Bauchhöhlenexsudat ein gleiches bacteriophages Virus nachzuweisen. Einmal klärten die aus dem Exsudat gezüchteten, dicken, schimmernden, schleimigen Kolonien, in eine gewöhnliche Colibouillonkultur überimpft, dieselbe wiederum auf und verliehen gleichzeitig den überlebenden Colibacillen die gleiche Fähigkeit. Andererseits konnte auch durch das Exsudat selbst, nachdem es auf 58° erhitzt und in Spuren zu gewöhnlicher Colibouillonkultur hinzugesetzt war, eine Klärung der letzteren bewirkt werden usw. Diese Versuche sprachen, da sich das Virus willkürlich hervorrufen ließ, nach *Bordets* und *Ciucas* Ansicht durchaus gegen ein belebtes Virus. Sie nehmen statt dessen an, daß es sich bei dem *d'Hérelle*schen Phänomen um eine „Variationserscheinung", und zwar um eine „viciation nutritive héréditaire", d. h. um eine erbliche Entartung der Bakterien handelt. Unter bestimmten äußeren Einflüssen (wie z. B. in ihrer Versuchanordnung) komme in der Bakterienzelle ein neuer Faktor zur Auswirkung. Die Fortdauer der Variation in den späteren Generationen, auch nach Schwinden der äußeren Einflüsse, nötige zu der Annahme, daß sich der intracelluläre Faktor immer von sich aus erneuere. Habe ein Mikroorganismus unter irgendwelchen vorübergehenden Einflüssen in sich

eine aktive Substanz, z. B. im Sinne einer Autolysebeschleunigungen erworben, so könne diese Substanz einerseits auf die Abkömmlinge vererbbar sein, andererseits aber auch die Substanz in das Kulturmedium diffundieren und von hier aus auf neu eingeführte Mikroorganismen übergehen, wodurch in diesen ebenfalls die Neigung zur Autolyse hervorgerufen würde.

Der Ansicht, daß es sich um ein Ferment handelt, schlossen sich auch *Poorter* und *Maisin* an. Sie haben das Verhalten des Lysins chemischen Agenzien gegenüber geprüft und nehmen auf Grund ihrer Versuche an, daß das lytische Prinzip zu den Enzymoiden gehört. (Vgl. S. 142.)

Salimbeni dagegen hält zwar an der belebten Natur des Virus fest, bezeichnet aber als Erreger eine Myxomyceesart, den Myxomyces shigaphagus, der im Sporenstadium das Filter passiere.

Auch *Bablet* glaubt auf Grund chemischer Untersuchungen ein Lebewesen annehmen zu müssen.

Bail gab zunächst für das Phänomen folgende Erklärung: Unter dem Einfluß verschiedener Eingriffe, insbesondere solcher der Körperschutzkräfte, soll es zu einer Art Abbau der dabei lebens- und vermehrungsfähigen Bakterien kommen. Es bilden sich „Splitter“, die schließlich auch das Berkefeldfilter passieren können. Das physiologische Verhalten wird dabei eingreifend verändert. Der „Splitter“ bedarf zu seiner Ernährung alles dessen, was ihm durch den vorhergehenden Abbau zum Fehlen gekommen ist. Indem er diese den lebenden Bacillen entzieht, werden diese selbst zu an sich lebensfähigen „Splittern“ abgebaut. Dadurch erkläre sich die Vermehrung des bakteriophagen Virus. In späteren Arbeiten scheint *Bail* sich allerdings mehr den Anschauungen *d'Hérelles* zu nähern. In seiner letzten Arbeit mit *Watanabe* unterscheidet er drei verschiedene Formen des „Bacteriophagen“, die schon äußerlich an der Größe der „tâches vièrges“ erkennbar, einzeln fortzüchtbar und serologisch different sein sollen.

D'Hérelle selbst hält daran fest, daß die Wirkung des Virus nur auf ein lebendes Agens zurückzuführen sei. Als Hauptargument führt er folgenden Versuch an:

Füllt man je 10 Röhrchen mit je 10 ccm Shigabacillenaufschwemmung von verschiedenem Bakteriengehalt und fügt zu jedem Röhrchen die gleiche Menge eines stark wirkenden filtrierten Bacteriolysates, so erhält man, wenn man aus jedem Röhrchen $^1/_{50}$ ccm entnimmt und auf sterilem Agar ausstreicht, folgendes Bild: Auf jedem der Nährböden sind Shigabacillen gewachsen, die eine bestimmte Menge „steriler“ Flecke enthalten. Die Zahl dieser unbewachsenen Stellen ist praktisch auf allen Platten dieselbe. Setzt man dagegen zu den gleichen Mengen Shigabacillenaufschwemmung steigende Mengen des Bacteriolysates, so ist die Zahl der „sterilen“ Flecke diesmal nicht überall dieselbe, sondern sie wächst mit der Menge des ursprünglich zugesetzten Bacteriolysates. Wenn jede sterile Stelle dadurch zustande käme, daß sich, wie dies z. B. *Gratia* behaupte, an ihr eine besonders empfindliche Bakterienzelle befunden hätte, so hätte man bei der ersten Versuchsanordnung ein Resultat erhalten müssen, bei dem die Zahl der Flecke mit der in der Aufschwemmung enthaltenen Bacillenmenge korrespondiert, und in der zweiten Versuchsanordnung müßten sich überall die gleiche Menge „steriler“ Stellen finden. Da das Experiment gerade das Gegenteil ergeben hat, schließt *d'Hérelle* daraus, daß das Bacteriolysat ein bestimmtes Element enthält, welches die „sterilen“ Flecke erzeugt. Seiner Ansicht nach kann das nur ein Parasit der Bakterien, ein Ultramikrobe, sein.

Auch die von *Kabéshima* und von *Bordet* und *Ciuca* angeführten Gründe, die gegen ein Lebewesen sprechen, hält er nicht für beweisend. So käme die Vernichtung des wirksamen Prinzipes durch Chemikalien ebenso bei Mikroben wie bei Diastasen vor. Eine Lebensfähigkeit über Jahre hinaus finde sich auch bei



Bakterien. Die Resistenz gegen Chloroform sei kein unbedingter Beweis gegen das Vorhandensein eines Lebewesens. Die von *Bordet* und *Ciuca* in der Bauchhöhle des Meerschweinchens gefundenen Bacteriophagen seien wahrscheinlich auf die Injektionen der Bakterien hin aus dem Darm in die Peritonealhöhle ausgewandert und nicht erst durch die Einspritzungen entstanden usw.

Wir selbst haben in früheren Arbeiten über unsere Versuche schon summarisch berichtet und aus diesen geschlossen, daß aus den Bakterien unter bestimmten Bedingungen bacteriophage Fermente entstehen. Von der Notwendigkeit, die Bacteriolyse auf Mitbeteiligung eines Mikroorganismus zurückzuführen, haben wir uns weder auf Grund unserer eigenen Versuche noch durch die Resultate der anderen Autoren überzeugen können.

Derartige Schädigungen der Bakterien durch Eigenfermente sind schon länger beobachtet.

Schon vor *d'Hérelle* hat *Hankin* auf die bactericide Wirkung des Wassers gewisser indischer Flüsse hingewiesen, die *d'Hérelle* als Wirkung eines Bacteriophagen anzusprechen geneigt ist.

Später hatte dann *Twort* Beobachtungen veröffentlicht, die sehr an die Befunde von *d'Hérelle* erinnern. *Twort* hatte glycerinierte Vaccine auf Agar gebracht. Es wuchsen Kokkenkolonien, die zunächst weiß und opak aussahen, von denen aber nach einiger Zeit die meisten transparent erschienen. Mikroskopisch enthielten die transparenten Kolonien nur Bakterientrümmer. Impfte man nun von Kolonien, die erst wenig Transparenz zeigen, ab, so erhält man opake und transparente Kolonien. Bringt man an den Rand einer opaken Kolonie eine Spur von einer transparenten, so nimmt von dieser Stelle die Auflösung der Kolonie ihren Anfang, die ganze Kolonie erscheint nach kurzem transparent. Auch gelang ihm der Nachweis des wirksamen Agens im Filtrate solcher transparenten Kolonien. Seine Versuche mit Bacillen der Typhus-Coligruppe aus Hundekot und aus diarrhoischem Kinderstuhl ergaben analoge Resultate. Als Erklärung nahm *Twort* ein aktives autolytisches Prinzip an, das von den Bakterien selbst erzeugt wird.

Gratia hat die Versuche nachgeprüft. Es gelang ihm, nach anfangs negativ verlaufenen Versuchen, einmal eine langsam wachsende Kultur zu erhalten, die makroskopisch kleine helle Flecke aufwies, und deren Filtrat eine ausgesprochen hemmende und lösende Wirkung auf Staphylokokkenkulturen ausübte.

D'Hérelle glaubt eine Identität zwischen seinem Bacteriophagen und dem Agens von *Twort* ablehnen zu müssen. Er hebt besonders hervor, daß das von *Twort* beschriebene Virus bei 60° zerstört wird, während sein Bacteriophagenvirus ohne weiteres Erhitzung auf 65° verträgt.

Gildemeister sieht in dem Auftreten der lytischen Fähigkeit eine Variabilitätserscheinung der Bacillen. Er hat schon in früheren Jahren aus alten Bouillonkulturen sowie aus frischen Stuhlausstrichen Kolonien gezüchtet, die völlig atypisch wuchsen, und die er wegen ihres übereinstimmenden Verhaltens bei der Weiterzucht trotz der großen Verschiedenheit ihrer Formen als eine gemeinsame Koloniegruppe auffaßte. Wegen ihrer außerordentlichen Labilität bei der Weiterzucht nannte er sie „Flatterformen". Diese „Flatterformen" fand er später auch in Ausstrichen aus Bacteriolysaten nach *d'Hérelle* wieder. Die aus den Bacteriolysaten stammenden „Flatterformen" verhielten sich nicht nur hinsichtlich der Formenbildung genau so wie die aus Stuhlausstrichen gewonnenen, sondern auch hinsichtlich ihres Verhaltens bei der Weiterzüchtung. Den Identitätsnachweis für diese beiden Arten „Flatterformen" hat er dadurch erbracht, daß es ihm gelang, in Stuhlausstrichen von darmkranken Personen einen in Flatterform wachsenden Coli zu isolieren, der gleichzeitig Träger eines mit dem *d'Hérelleschen* Bacteriophagen identischen lytischen Agens war. So nimmt er mit *Bordet* und *Ciuca* an,

daß das *d'Hérelle*sche Phänomen in das Gebiet der Variabilitätserscheinungen gehört, und daß nicht nur durch den Leukocytenreiz, sondern auch durch andere Reize noch unbekannter Art (z. B. in alten Kulturen) Varianten abgespalten werden, die das lytische Agens enthalten.

Daß die Befunde von *Eijkmann* sowie die von *Conradi* und *Kurpjuweit* vielleicht in einem gewissen Zusammenhang mit den *d'Hérelle*schen Befunden stehen, haben wir schon an anderer Stelle erwähnt. Da die erforderlichen systematischen Versuche nach der Richtung, ob die dort beschriebenen Erscheinungen mit dem *d'Hérelle*schen Phänomen in der Tat identisch sind, noch nicht möglich waren, wollen wir auf diese Beobachtungen hier nicht näher eingehen, sondern nur darauf hinweisen, daß schon vor *d'Hérelle* auch noch eine Anzahl anderer Autoren mit Bakterienfiltraten spezifische Bactericidie erzielten. (Literatur vgl. *Kruse*.)

Im folgenden beabsichtigen wir über unsere eigenen Versuchsergebnisse eingehendere Mitteilungen zu machen, um unsere früheren summarischen Angaben über das gleiche Thema (in der Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 52 und Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 12) zu belegen und zu ergänzen.

I. Gewinnung des Virus aus Stuhl und Fortzüchtung.

a) *Bei Darmkranken.*

Unsere „Bacteriophagen" gewannen wir anfangs, indem wir nach der Originalmethode von *d'Hérelle* vorgingen. Die Faeces von Darmkranken (Ruhr, Typhus) wurden nach Verreibung in Bouillon teils frisch, teils nach 24stündiger Bebrütung bei 37°, durch Berkefeldfilter filtriert, wobei sich ergab, daß die nach der letzteren Methode gewonnenen Filtrate meist eine etwas größere lytische Kraft besaßen als die bei sofortiger Filtration. Die Filtrate wurden dann nach den Angaben von *d'Hérelle* bei 37° weitergezüchtet, indem Spuren von ihnen in Bouillonröhrchen gebracht wurden, in welche Ruhr- bzw. Typhusbacillen eingesät waren. Die Wirksamkeit der Filtrate prüften wir teils nach Einbringen in Bouillonröhrchen mit Bakterienkulturen, teils (und zwar später ausschließlich) durch Auftropfen auf frisch ausgestrichene, aber noch nicht bebrütete Drigalski-Conradi-Platten. Auf diese wurde also zunächst eine Spur der betreffenden Bakterienkultur mit dem Platinspatel ausgestrichen; in die Mitte der beimpften Stelle kam dann (vor der Bebrütung) ein Tropfen des zu untersuchenden Filtrates. Sodann wurde die Platte auf 24 Stunden bei 37° bebrütet. Der Erfolg war verschieden, je nach der Stärke des Virus (vgl. die nachstehenden Abbildungen). Bei sehr kräftigem Virus war an der Stelle des Filtrattropfens keine Spur von Bakterienwachstum. (Von uns in den späteren Protokollen mit $+_4$ bezeichnet.) Das Gegenteil zeigte sich bei völlig unwirksamen Filtraten. Hier hatten sich die Bakterien an dieser Stelle genau so stark vermehrt wie an den nicht mit dem Filtrat in Berührung gekommenen. Wir haben diesen Ausfall mit „0" bezeichnet. Teilweise Hemmung des Bakterienwachstums ist je nach der Stärke mit $+_3$,



$+_2$, $+_1$ bezeichnet. In diesen Fällen sieht man von Bakterienrasen frei gebliebene Stellen mit mehr oder weniger ausgezackten Rändern. Schließlich kann man noch beobachten, daß zwar ein zusammenhängendes Bakterienwachstum stattfindet, man erkennt aber in dem Bakterienrasen eine Anzahl freier Punkte (Löcher) von Stecknadelkopf- bis Nadelspitzengröße (tâches vièrges). Diese Stellen faßt *d'Hérelle* als Einzelkulturen seines invisiblen Virus auf. Wir haben in unseren Protokollen dieses Resultat mit $\pm$ bezeichnet und meist die Zahl der gezählten „Kolonien" wiedergegeben (z. B. $\pm$ 20, d. h. 20 Löcher).



Abb. 1. Mit Typhusbacillen besäte Agarplatte, auf die nach dem Ausstreichen ein Tropfen Typhuslysin, 1:1000 verdünnt, gebracht ist. Maximale Wirkung des Lysins ($+_4$); ganz vereinzelte resistente Keime.

Außer den mehr oder weniger großen Flächen auf der Platte, an denen kein Wachstum auftritt, haben wir nun noch eine neue Art der Schädigung des Bakterienwachstums beobachtet. Wir fanden nämlich bei der Untersuchung eines Paratyphus-B-Virus Platten, auf denen überall an den mit Virus benetzten Stellen zwar Wachstum auftrat, das aber nur hauchartig war. Dieses Ergebnis ist von uns in den Protokollen mit $\mp$ bezeichnet worden (vgl. Protokoll über Paratyphus B).

Das *Plattenverfahren* hat gegenüber dem Nachweis des Virus in Bouillonröhrchen einen doppelten Vorteil. Einmal können Verunreinigungen sofort erkannt werden, während bei Trübung der Bouillon immer erst mikroskopische bzw. kulturelle Nachprüfungen stattfinden

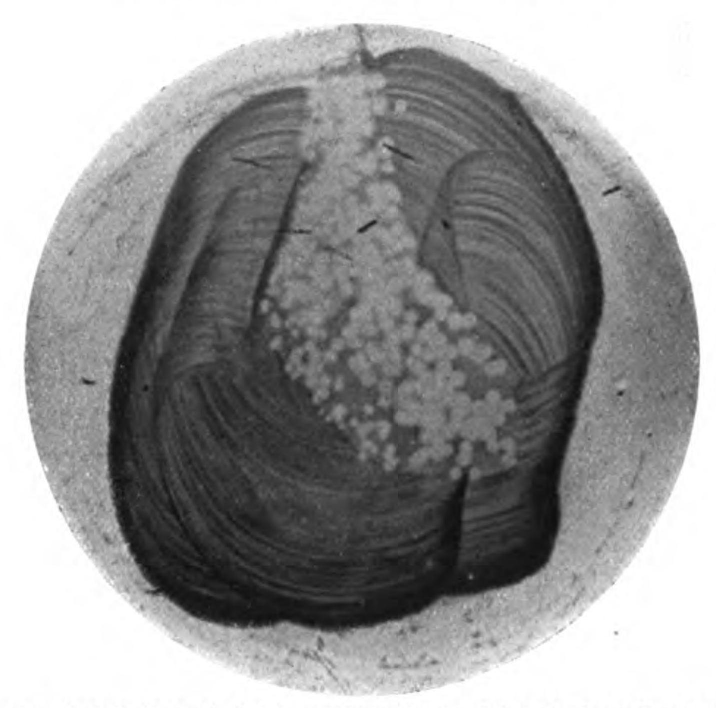


Abb. 2. Mit derselben Kultur wie bei 1 angelegte Typhusplatte. Lysinverdünnung 1:1000000. Mäßig starke Wirkung des Lysins ($+_2 - +_1$). Konfluierende „tâches vièrges".

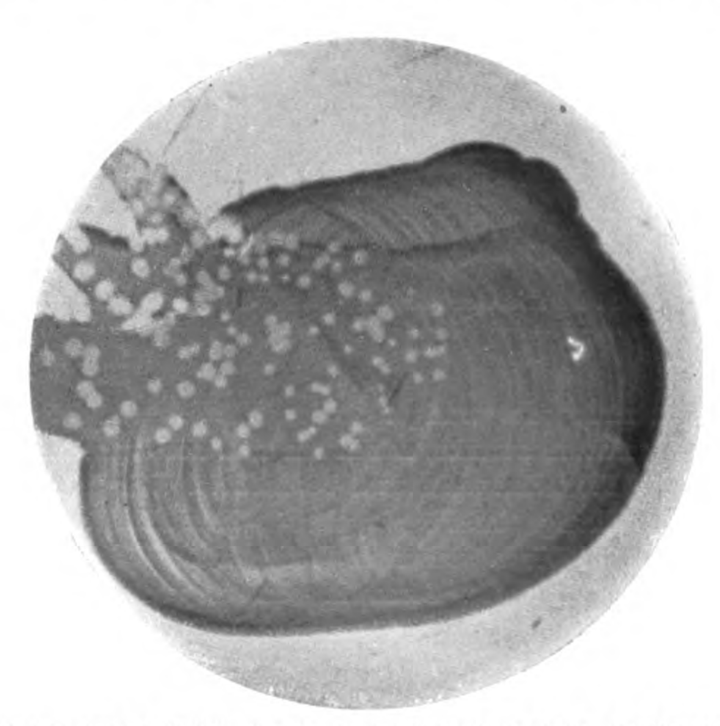


Abb. 3. Mit der gleichen Kultur wie bei 1 und 2 angelegte Platte. Verdünnung des Lysins 1:100000000. Geringe aber noch deutliche Lysinwirkung (±), erkenntlich an den „sterilen Flecken" (tâches vièrges).

müssen, um die Ursache der Trübung sicher festzustellen. Andererseits sind selbst geringe Schädigungen der Bakterien durch das Virus erkennbar, die sich in den erwähnten „tâches vièrges“ oder hauchartigem Wachstum äußern. Werden bei dem Bouillonröhrchenverfahren die Kontrollen bei einzelnen Versuchen versäumt, so können natürlich ganz falsche Versuchsresultate erhalten werden. Auch bei dem Plattenverfahren kommt man nicht ganz ohne mikroskopische Kontrollen aus, denen sich mitunter noch serologische und biologische Untersuchungen anzuschließen haben, da die Bakterienkultur unter dem Einflusse des Virus weitgehende morphologische und biologische Veränderungen erleiden kann. Immerhin sind diese Kontrolluntersuchungen beim Plattenverfahren erheblich einfacher und auch seltener nötig als bei dem Bouillonverfahren, so daß das erstere eine weitgehende Material- und Zeitersparnis mit sich bringt.

Wir geben hier zunächst einige Teilprotokolle von einzelnen Serienzüchtungen mit Virus aus Stuhl wieder. Die vollständigen Protokolle wiederzugeben ist aus technischen Gründen leider nicht möglich.

Flexnerruhrvirus 2.

Das Virus ist am 2. VII. 1921 aus den Dejekten eines an Flexnerruhr leidenden Kranken gewonnen. Faeces vor der ersten Filtration nicht bebrütet. Filtrate fortgezüchtet mit Flexnerbacillen.

Die Wirksamkeit der Filtrate wurde geprüft[1]) gegen

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
1	5. VII. 1921	0	$+_2$	$+_1$	0
2	6. VII. 1921	0	$+_3$	$+_3$	0
3	7. VII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
4	9. VII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
5	11. VII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
6	13. VII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
15	5. VIII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
17	10. VIII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
18	15. VIII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
20	1. IX. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
40	3. XI. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
70	15. II. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0

Polyvalentes Ruhrvirus W.

Virus am 1. VIII. 1921 aus den Dejekten eines an klinischer Ruhr leidenden Patienten gewonnen. In den Faeces war keine bestimmte Art der Ruhrbacillen gefunden worden. Faeces vor der ersten Filtration 24 Stunden bebrütet. Filtrate fortgezüchtet mit einem *Gemisch* von Shiga-Kruse-, Flexner- und Y-Bacillen.

[1]) Bezüglich der Zeichenerklärung siehe vorstehenden Text. Bei der Ausführung der umfangreichen Versuche hat uns Frl. *A. v. Grolman* auf das beste unterstützt.



Die Wirksamkeit der Filtrate wurde geprüft gegen

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
1	5. VIII. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
3	11. VIII. 1921	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_2$
6	15. VIII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
10	1. IX. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
15	15. IX. 1921	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_2$
20	1. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
25	12. XII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0

Polyvalentes Ruhrvirus K.

Virus am 2. IX. 1921 aus den Dejekten eines an klinischer Ruhr leidenden Patienten gewonnen. In den Faeces war keine bestimmte Form der Ruhrbacillen gefunden worden. Faeces vor der ersten Filtration bebrütet.

Filtrate A fortgezüchtet mit einem *Gemisch* von Shiga-, Flexner- und Y-Bacillen.

Filtrate B fortgezüchtet mit Typhusbacillen.

Die Untersuchung des Krankenblutes nach *Widal* während und nach seiner Erkrankung war auf Typhus stets negativ, auf Flexnerruhr in der Rekonvalescenz 1 : 200 positiv.

Nr. der Passagen	Datum	Filtrat A				Filtrat B			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-Bacillen
1	6. IX. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$				
5	12. IX. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0				
7	15. IX. 1921	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_2$				
10	1. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
15	17. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_2$
17	25. X. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0 [1])	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_2$
20	12. XII. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
30	4. I. 1922	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$

Polyvalentes Shigavirus „Po".

Virus am 2. IX. 1921 aus den Dejekten eines an Shigaruhr leidenden Patienten gewonnen. Faeces vor der ersten Filtration bebrütet.

Filtrate fortgezüchtet mit Shiga-Kruse-Bacillen.

Die Wirksamkeit wurde geprüft gegen

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
1	6. IX. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
5	12. IX. 1921	0	0	0	0 [2])
7	15. IX. 1921	$+_1$	$+_1$	$+_4$	$+_1$
10	1. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
15	17. X. 1921	$+_4$	$+_2$	$+_2$	$+_4$
17	25. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
20	12. XII. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
30	4. I. 1922	$+_4$	$+_2$	$+_2$	$+_4$

[1]) Das Ausfallen einzelner Passagen kann man öfters beobachten.

[2]) Siehe Anmerkung zu vorstehendem Protokoll.

Diese Beispiele mögen genügen. Bemerken möchten wir zu diesen Versuchen noch, daß die vorstehenden Filtrate regelmäßig noch gegen eine Anzahl anderer homologer und heterologer Bakterienarten geprüft wurden. Dabei ergab sich, daß keins dieser Filtrate gegen einen unserer zahlreichen Colistämme wirksam war. Wurde der Versuch gemacht, sie mit einem Colistamm fortzuzüchten, so verloren die Passagen nach wenigen Tagen ihre Wirksamkeit. Genau so verhielten sie sich gegenüber Staphylokokken, Streptokokken, Heubacillen, Vibrionen (Nr. 10 der Sammlung des Institutes), Prodigiosus u. a.

Eine *Fortzüchtung des Virus* gelingt nur bei Zusatz von *lebenden Keimen*, wie das folgende Protokoll zeigt.

Das *Filtrat* unseres Virus 2 wird A mit *lebenden Y-Bacillen* und B mit im Wasserbad bei 70° *abgetöteten* Y-Bacillen fortzuzüchten versucht.

Nr. der Passagen	Datum	Filtrat A				Filtrat B			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
1	24. II. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
2	25. II. 1922	0	$+_4$	$+_3$	0	0	$+_2$	± (cr. 100)	0
3	27. II. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	0	0	0
4	1. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	0	0	0

Wollmann konnte indessen nachweisen, daß zur Fortzüchtung schon diffusible Produkte der lebenden Bacillen genügen. Er schloß das aus folgendem Versuch: Die beiden bei der Bacteriophagie beteiligten Faktoren wurden durch Kollodiumsäckchen getrennt. In das Säckchen kam eine frisch angelegte Shigakultur, als umgebendes Medium wurden 20 ccm Bouillon plus 10 Tropfen stark verdünnten Bacteriolysats verwendet. Hatte er hochpermeable Säckchen, so stieg die lösende Kraft des Lysats, während gleichzeitig die Shigakultur gelöst wurde. Es fand also eine Dialyse des bacteriophagen Agens statt. War die Durchlässigkeit des Säckchens gering, so nahm zwar die Energie des äußeren Mediums zu, die Shigakultur blieb jedoch unbeeinflußt.

Nach unseren Befunden läßt sich ein Virus fast gleichmäßig gut fortzüchten bei 37, 22 und 8°. Virusarten, die bei 37° fortgezüchtet sind, haben wir schon im vorstehenden des öfteren erwähnt. Im folgenden geben wir ein Protokoll über die Züchtung bei 22° und 8°. Virus-Y-Bouillon fortgezüchtet:

Nr. der Passagen	Datum	a) bei 8°				b) bei 22°			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
1	24. II. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
2	25. II. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_{4/3}$	$+_4$	0
3	26. II. 1922	0	$+_4$	$+_3$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
4	1. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
5	2. III. 1922	—	$+_4$	$+_4$	—	—	$+_4$	$+_{4/3}$	0

(Fortsetzung.)

Nr. der Passagen	Datum	a) bei 8°				b) bei 22°			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-Bacillen	Typhus-bacillen
6	4. III. 1922	—	$+_4$	$+_4$	—	—	$+_4$	$+_4$	0
7	6. III. 1922	0	$+_4$	$+_{4/3}$	0	0	$+_{3/4}$	$+_{3/4}$	0
8	7. III. 1922	0	$+_{4/3}$	$+_{4/3}$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
9	8. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
10	10. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
11	11. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
12	13. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0
13	14. III. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	0

Bei diesen Temperaturen läßt sich also ein Unterschied in der Wirkungsstärke nicht feststellen.

b) *Versuche mit dem Stuhl Nicht-Darmkranker.*

Bei einer Anzahl von Fleckfieberkranken hatten wir durch das Entgegenkommen von Geheimrat *Glaser* (Frankfurt a. O.) Gelegenheit, Faeces und Urin auf Virus zu untersuchen. In den Dejekten der meisten dieser Kranken ließen sich *keine Lysine* nachweisen. Geprüft wurden: Shiga-, Flexner-, Y-, Typhus-, Proteus x 19-Bacillen (H- und O-Form) und mehrere Coli-Stämme. Dagegen fand sich in dem Urin eines Kranken ein Virus, das ausschließlich gegen *Typhus* gerichtet war, das aber bei der Weiterzüchtung mit Proteus x 19 - H-Form nach zwei Überimpfungen einging. In den Faeces eines anderen Kranken fanden sich schwache Lysine gegen *Y-Bacillen*, die sich aber bei der Weiterzüchtung mit einem Bakteriengemisch von Shiga-, Flexner-, Y-, Typhus- und x 19-Bacillen maximal gegen Flexner- und Y-Bacillen einstellten. Ein ähnliches Verhalten zeigten die Faeces eines dritten Kranken, bei dem sich die Wirksamkeit des Lysins nach Fortzüchtung mit dem gleichen Bakteriengemisch neben Flexner- und Y-Bacillen auch auf Shiga-Kruse-Bacillen erstreckte.

In all diesen Fällen konnten wir trotz mehrfacher Untersuchung weder in den Faeces noch in dem Urin darmpathogene Keime nachweisen.

c) *Vorkommen im Stuhl gesunder Personen.*

Versuche nach dieser Richtung hin sind bereits von verschiedenen Autoren angestellt. *Debré* und *Haguenau* konnten aus dem Filtrat von 81 Stühlen (bei 63 Personen) 17 mal den „Bacteriophagen" züchten. Er wirkte stets gegen Shigabacillen, gleichviel gegen welche Bakterien er sonst noch tätig war. Ein solches Virus, das gegen Shiga- und Flexnerbacillen wirksam war, verlor auch seine Wirksamkeit gegen Flexnerbacillen dann nicht, wenn es ausschließlich mit Shigabacillen fortgezüchtet wurde.

Nach *d'Hérelle* finden sich im Stuhl gesunder Menschen gar nicht selten „Bacteriophagen" gegen Ruhr-, Paratyphus-, Coli- usw. Bakterien, wenn auch von geringerer Aktivität. Insbesondere könne man nach jeder kleinen Darmstörung irgendeinen „Bacteriophagen" nachweisen. Auch im Tierkot wurde ein solcher häufig festgestellt.

D'Hérelle fand das bacteriophage Virus regelmäßig bei Rindern, die einer Barboneinfektion ausgesetzt waren, aber selbst keine Krankheitszeichen darboten. Ebenso in den Faeces von Ratten, die eine Pestinfektion überstanden hatten.

Dumas gelang der Nachweis des Virus in Erde und Wasser.

Wir selbst haben uns mit systematischen Versuchen zum Nachweis des Bacteriophagen bei Nichtkranken nicht beschäftigt, konnten indessen gelegentlich in den Faeces klinisch und bakteriologisch gesunder Personen des öfteren Virus nachweisen.

So fanden sich in den Faeces des Kollegen M. sofort nach der Filtration lytische Stoffe gegen Shiga- und Typhusbacillen. Nach Weiterzüchtung mit Flexner-Bacillen erstreckte sich die maximale Wirkung auch auf Flexner- und Y-Bacillen, ohne daß sie für Shiga- und Typhusbacillen verlorenging. Der betreffende Arzt hat bewußt niemals eine infektiöse Darmerkrankung durchgemacht. Im Stuhl fanden sich bei häufigen Untersuchungen keine pathogenen Keime. Allerdings ergab die Untersuchung des Blutes nach *Widal* auf Typhus ein schwach positives Resultat, das aber wohl auf die Schutzimpfungen während des Krieges zurückzuführen war.

Bei dem Laboranten Gl. zeigte der Stuhl maximale lytische Wirkung gegen Flexner- und Y-Bacillen, ohne daß auch hier jetzt oder früher eine infektiöse Darmerkrankung festgestellt werden konnte. Bakteriologisch fanden wir bei ihm eine Reinkultur von Colibacillen, die selbst in keiner Weise von diesem Virus angegriffen wurden, mit denen auch ebensowenig das Virus fortgezüchtet werden konnte. Spontan konnte aus diesem Stamm kein Virus gezüchtet werden.

Bei mehreren anderen Personen ließ sich Virus nicht nachweisen.

Erwähnt seien in diesem Zusammenhang noch die Untersuchungen bei dem Laboranten V., der während des Krieges an schwerer Ruhr erkrankt gewesen ist. In den Faeces fanden sich bei mehrmaliger Untersuchung weder pathogene Bakterien, noch ließ sich irgendwie Virus nachweisen.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß sich Bacteriophagen gegen pathogene Darmbakterien bei Personen finden können, die weder klinisch krank noch bakteriologisch Keimträger sind.

II. Gewinnung des Virus aus Peritonealexsudat.

Nach dem *Verfahren von Bordet und Ciuca* (s. oben) ist es uns bisher niemals mit Colibacillen, wohl aber mehrmals mit Ruhrbakterien gelungen, in dem Bauchhöhlenexsudat vorbehandelter Meerschweinchen lytische Stoffe nachzuweisen. Als Beispiel eines solchen Versuches diene nachstehendes Protokoll:

8. XII. 1921. Meerschweinchen 3134 (Gewicht 300 g) erhält am

8. XII. 1921 (1. Injektion)	$^1/_{10}$	Öse	Shigakultur	intrap.
10. XII. 1921 (2. Injektion)	$^1/_5$	„	„	„
16. XII. 1921 (3. Injektion)	$^1/_2$	„	„	„
20. XII. 1921 (4. Injektion)	1,0	„	„	„



7 Stunden nach jeder Injektion wird aus der Bauchhöhle mittels Capillarpipette Exsudat entnommen und auf Virus geprüft. (Fortzüchtung mit dem homologen Shigastamm.)

Datum		Prüfung gegen			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
8. XII. 1921	1. Exsudatentnahme . .	0	0	0	0
9. XII. 1921	Passage 1	0	0	0	0
10. XII. 1921	„ 2	0	0	0	0
11. XII. 1921	„ 3	0	0	0	0
10. XII. 1921	2. Exsudatentnahme . .	0	0	0	0
11. XII. 1921	Passage 1	0	0	0	0
12. XII. 1921	„ 2	0	0	0	0
13. XII. 1921	„ 3	0	0	0	0
16. XII. 1921	3. Exsudatentnahme . .	0	0	0	0
17. XII. 1921	Passage 1	0	0	0	0
18. XII. 1921	„ 2	0	0	0	0
19. XII. 1921	„ 3	0	0	0	0
20. XII. 1921	4. Exsudatentnahme . .	0	0	0	0
21. XII. 1921	Passage 1	0	0	0	0
22. XII. 1921	„ 2	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
23. XII. 1921	„ 3	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$

Nach der 4. Injektion traten im Bauchhöhlenexsudat also Stoffe auf, die nach zweimaligem Überimpfen mit normalen Shigabakterien maximal bacteriophag wirkten nicht nur gegen diese Bakterien, sondern auch gegen Flexner-, Y- und Typhusbacillen. Gegen Colibacillen, Streptokokken, Staphylokokken, Heubacillen usw. waren sie nicht wirksam.

Bei der Gelegenheit möchten wir noch besonders auf die Tatsache hinweisen, daß die Gewinnung eines wirksamen Bacteriophagen häufig erst nach mehrmaliger Filtration gelingt. Diese Tatsache wurde von uns als besonders wichtig bei der Gewinnung von Bacteriophagen aus Kulturen (allein) erkannt, worauf wir in dem folgenden Abschnitt näher eingehen werden.

III. Gewinnung des Virus aus Kulturen.

Eingangs wurde bereits bemerkt, daß wir aus Bakterienkulturen allein (in vitro) das lytische Agens gewinnen konnten. Auch andere Autoren berichteten über ähnliche Beobachtungen. Es sei hier noch einmal auf die bereits erwähnten Befunde *Gildemeisters* und *Bails* hingewiesen. Letzterem gelang es, Virus nachzuweisen, wenn er Reinkulturen normaler Bakterien in Fleischbouillon wiederholt einbrachte, nachdem er die vorhergehende Bakterienkultur durch Zentrifugieren entfernt hatte[1]).

Im folgenden wollen wir auf unsere Erfahrungen bezüglich der *Gewinnung des Virus aus Bakterienkulturen* näher eingehen. Als Aus-

[1]) Auf die Befunde *Kuttners* ist an anderer Stelle hingewiesen.



gangsmaterial benutzten wir ältere Bouillonkulturen von Bakterien, deren Filtrate an und für sich keine lytische Wirksamkeit besaßen. Die Filtrate wurden dann in der üblichen Weise mit dem homologen Bakterienstamm fortgezüchtet. Dabei zeigte sich, daß nach einer bestimmten Zeit bei mehreren Kulturen typische bacteriophage Wirkungen auftraten.

A. *Virus aus Typhusbouillonkultur.*

Am 12. X. 1921 wird eine 14 Tage alte, wiederholt beimpfte Typhusbouillonkultur durch ein Berkefeldfilter filtriert. Die Filtrate werden passageweise mit Typhusbacillen beimpft. Geprüft gegen

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Coli-bacillen
1	13. X. 1921	0	0	0	0	0
2	14. X. 1921	0	0	0	0	0
3	15. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_1$(?)	$+_4$	0
4	17. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0
5	19. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0
6	21. X. 1921	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_4$	0
7	23. X. 1921	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0

Dieselbe Typhusbacillen-Bouillonkultur wurde gleichzeitig (statt der Filtration) zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde wie ein Filtrat behandelt, d. h. auf bactericide Wirksamkeit geprüft sowie mit frischen Bakterien zusammengebracht. Trotz 15 maliger Wiederholung derselben Prozedur konnten bactericide Stoffe nicht nachgewiesen werden.

B. *Virus aus Paratyphus-B-Bouillonkultur.*

Am 3. II. 1922 wird eine 4 Tage alte Paratyphus-B-Bouillonkultur durch Bakterienfilter filtriert. Die Filtrate werden passageweise mit frischen Paratyphus-B-Bacillen beimpft. Geprüft gegen:

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Paratyphus-A-Bacillen	Paratyphus-B-Bacillen
1	4. II.	0	0	0	0	0	0
2	6. II.	0	0	0	0	0	0
3	16. II.	—	—	—	—	—	$\mp$ ($+_1$)
4	20. II.	0	—	—	—	—	$\mp$ ($+_2$)
5	21. II.	0	0	0	0	0	0 (?)
6	22. II.	0	0	0	0	0	$\mp$ ($+_2$)
7	23. II.	0	0	0	0	0	$\mp$ ($+_1$)
8	24. II.	0	0	0	0	0	0 (?)
9	25. II.	0	0	0	0	0	$\mp$ ($+_2$)
10	27. II.	0	0	0	0	0	$\mp$ ($+_1$)
11	28. II.	0	0	0	0	0	0
12	1. III.	0	0	0	0	0	$\mp$ ($+_3$)
13	2. III.	—	—	—	—	—	$\mp$ ($+_{2/3}$)
14	3. III.	0	0	0	0	$\mp$($+_1$)	$\mp$ ($+_2$)
15	4. III.	0	0	0	0	$\mp$($+_1$)	$\mp$ ($+_{3/4}$)



Bemerkenswert war bei diesem Virus, daß es auf den mit Paratyphus-B-Bacillen beimpften Platten nicht große, bakterienfreie Löcher erzeugte, sondern die Schädigung der Bakterien durch mehr oder weniger hauchartiges Wachstum anzeigte (vgl. S. 123).

C. *Virus aus Y-Bacillen-Bouillonkultur.*

Am 19. X. 1921 wird eine 3 Wochen alte, wiederholt beimpfte Y-Bacillenbouillonkultur durch ein Bakterienfilter filtriert. Die Filtrate werden passageweise mit frischen Y-Bacillen beimpft. Geprüft gegen:

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Coli-bacillen
1	21. X. 1921	0	0	0	0	0
2	23. X. 1921	0	0	0	0	0
3	25. X. 1921	$+_2$	$+_4$	$+_4$	0	0
4	27. X. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0	0
5	29. X. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0	0
7	1. XI. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0	0
8	3. XI. 1921	0	$+_2$	$+_4$	0	0
10	5. XI. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0	0

Dieselbe Y-Bacillen-Bouillonkultur wurde gleichzeitig (statt Filtration) zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde wie ein Filtrat behandelt, d. h. auf bactericide Wirksamkeit geprüft sowie zur Fortzüchtung des Virus mit frischen Bakterien zusammengebracht. Trotz 15maliger Wiederholung derselben Prozedur konnten bactericide Stoffe nicht nachgewiesen werden.

D. *Virus aus Flexnerbacillenbouillon.*

Am 10. X. 1921 wird eine 14 Tage alte, wiederholt beimpfte Flexnerbouillonkultur durch Berkefeldfilter filtriert. Die Filtrate werden passageweise mit frischen Flexnerbacillen zusammengebracht. Ein Teil derselben Bouillon wird (anstatt filtriert) zentrifugiert[1]), die überstehende Flüssigkeit wird wie das Filtrat behandelt.

Nr. der Passagen	Datum	Filtriert				Zentrifugiert			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
1	13. X.	0	0	0	0	0	0	0	0
2	14. X.	0	0	0	0	0	0	0	0
3	15. X.	0	$+_4$	$+_4$	0	0	$+_1$ (?)	$+_1$ (?)	$+_1$ (?)
4	16. X.	0	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0	0	0	0
5	17. X.	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_1$ (?)	0	0	0	0
6	18. X.	0	$+_4$	$+_4$	0	0	0	0	0
7	19. X.					0	0	0	0
10	22. X.					0	$+_1$	$+_1$	0
12	24. X.					0	$+_1$	$+_1$	0
14	26. X.					0	$+_2$	$+_2$	0
15	28. X.					0	$+_4$	$+_4$	0

[1]) Bemerkung zu den Zentrifugierversuchen: Diese Kontrollversuche beweisen gleichzeitig, daß die Erzeugung des Virus nicht etwa durch eine „Infektion“

E. *Virus aus Shiga-Kruse-Bacillen-Bouillonkultur.*

Am 18. X. 1921 wird eine 3 Wochen alte, wiederholt beimpfte Shigabacillen-Bouillonkultur durch Bakterienfilter filtriert. Die Filtrate werden passageweise mit frischen Shigabacillen beimpft. Geprüft gegen:

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Coli-bacillen
1	21. X. 1921	0	0	0	0	0
2	24. X. 1921	0	0	0	0	0
3	25. X. 1921	0	0	0	0	0
6	30. X. 1921	0	0	0	0	0
8	3. XI. 1921	0	0	0	0	0
10	10. XI. 1921	0	0	0	0	0
15	22. XI. 1921	$+_4$	$+_2$	$+_2$	$+_4$	0
18	29. XI. 1921	$+_4$	$+_2$	$+_2$	$+_4$	0

Bei diesem Stamm war die Virusbildung eine besonders langsame. 15maliges Filtrieren und erneutes Beimpfen war erforderlich, um die Bactericidie der Filtrate deutlich nachweisbar werden zu lassen.

F. *Coli-Virus.* Während es uns bei dem Stamm Coli II (Sammlung) weder durch Filtrieren noch durch Zentrifugieren gelang, in 15 Passagen Virus nachzuweisen, war dies bei anderen Colistämmen möglich, wie folgende Versuche zeigen:

a) Coli-mutabile-Virus.

Eine 24 Stunden alte Coli-mutabile-Bouillonkultur wird: a) filtriert, b) zentrifugiert. Geprüft gegen:

Nr. der Passagen	Datum	A.					B.				
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Coli-mu.-bac.	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus bacillen	Coli-mu.-bac.
1	1. XII.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	3. XII.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	5. XII.	$+_4$	$+_2$	0	$+_4$	$+_1$ (?)	0	0	0	0	0
7	7. XII.	$+_4$	$+_4$	$+_2$	$+_4$	0	0	0	0	0	0
8	10. XII.	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0	0	0	0	0	0
10	15. XII.						0	0	0	0	0
12	17. XII.						0	0	$+_1$ (?)	0	0
15	20. XII.						0	$+_4$	$+_4$	0	0
20	30. XII.						0	$+_4$	$+_4$	0	0

Bemerkenswert ist bei diesem Versuch, daß wohl gegen Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusbacillen bactericide Stoffe auftraten, nicht aber gegen den homologen Colistamm, mit dem das Virus gewonnen wurde.

des Filterapparates mit dem „Bacteriophagen" beim Filtrieren erfolgt. Eine solche schien uns in dem Falle möglich, daß die Gummikappen trotz peinlichster Waschung und Desinfektion mit Sublimat nicht genügend gesäubert worden wären.



b) Coli-mutaflor-Virus.

Am 12. XII. wird Bact. coli „Mutaflor“ in saure (p_H 6,5) Bouillon verimpft, und die bebrütete Kultur nach 24 Stunden filtriert. Die Passage wurde in üblicher Weise mit Coli „Mutaflor“ angesetzt und das Filtrat im Plattenversuch geprüft. Dabei zeigte sich das folgende eigentümliche Verhalten der Filtrate:

Nr. der Passagen	Datum	Coli-Samml.	Coli 2	Coli-Mutafl.	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
1	13. XII. .	0	0	0	0	0	0	0
4	16. XII. .	0	0	0	0	0	0	0
5	20. XII. .	$+_4$	0	0	—	—	—	—
6	22. XII. .	±	0	0	0	0	0	0
7	24. XII. .	0	0	$+_4$	0	0	0	0
10	29. XII. .	0	0	$+_4$	—	—	—	—
11	30. XII. .	$+_1$	0	$+_4$	0	0	0	0
12	31. XII. .	0	0	$+_4$	0	0	0	0
13	2. I. . . .	0	0	$+_4$	0	0	0	0
14	3. I. . . .	$+_1$	0	$+_{2/3}$	—	—	—	—
16	5. I. . . .	$+_4$	0	$+_1$ (?)	—	—	—	—
18	8. I. . . .	$+_4$	0	0	—	—	—	—
19	9. I. . . .	$+_4$	0	0	0	0	0	0

Es hat sich also zunächst ein nicht gegen den homologen Stamm, sondern gegen einen heterologen Stamm wirksames Virus gebildet. Seine Wirksamkeit war gegen den heterologen Stamm sehr schwankend. Von der 7. Passage ab zeigten die Filtrate bis zur 15. Passage bacteriophage Wirkung auch gegen den homologen Stamm. Diese verschwand wieder und nunmehr behielten die Filtrate (bei Fortzüchtung mit Coli „Mutaflor“) dauernd Wirksamkeit nur gegen den mitgeprüften heterologen Colistamm.

G. *Staphylokokkenvirus.* Auch mit Staphylokokkenkulturen konnten wir wirksame Bacteriophagen gewinnen, ihre Wirkung war aber eine schwache und äußerte sich in dem Auftreten kleinster, doch zahlreicher „tâches vierges“.

Wir haben im vorstehenden nur eine kleine Auswahl unserer Protokolle gebracht, die die Gewinnung des Virus aus den verschiedenen Bakterienkulturen ohne Mitbeteiligung eines lebenden Organismus (Mensch, Tier) zeigen. Bisher gelang es uns 17 mal solche bacteriophagen Stoffe aus den Kulturen nachzuweisen. Allerdings mußten die Kulturen häufig filtriert werden, ehe sich Virus nachweisen ließ. Beim Zentrifugieren gelang uns der Nachweis von Virus viel seltener und erst in späteren Passagen. Es muß also der *Vorgang des Filtrierens* von prinzipieller Bedeutung sein. Wahrscheinlich werden beim Filtrieren (d. h. beim Passieren der feinen Filtercapillaren) die Bakterientrümmer in besonderer Art kolloid-chemisch verteilt, während dies

beim Zentrifugieren nicht oder nur in geringem Maße der Fall ist. Auch könnte die adsorptive Zurückhaltung bestimmter Stoffe durch die Filter in Frage kommen. Versetzten wir indessen die überstehende Flüssigkeit der Zentrifugate mit Tierkohle, Kaolin, Bolus oder einem anderen, ähnlich wirkenden Adsorbens, so erhielten wir keine besseren Resultate, als wenn die Bouillonkulturen nur zentrifugiert wurden. Wir nehmen daher an, daß in erster Linie gerade beim Filtrieren rein mechanische Momente eine Rolle spielen, und möchten auch an dieser Stelle auf die interessanten Versuche *Ehrenbergs* mit filtrierten Caseinphosphatlösungen hinweisen.

Der Einwand, der hier gemacht werden könnte, daß die überstehende Flüssigkeit der Zentrifugate niemals bakterienfrei sei und daß die Anwesenheit dieser Bakterien eine etwaige bactericide Wirkung der Zentrifugate in irgendeiner Weise verhindern könnte, ist nicht stichhaltig. Benutzten wir nämlich beim Filtrieren Kerzen, die, wie die späteren Sterilitätsproben ergaben, fehlerhaft waren und noch einzelne Bakterien passieren ließen, so war dennoch die Wirkung der Filtrate maximal. Beim Zentrifugieren kann also die Anwesenheit von Bakterien nicht als ausschlaggebender Grund für das Fehlen der bacteriophagen Kraft angesprochen werden.

Der folgende Versuch ist insofern von Interesse, als er zeigt, daß ein hochwertiges Virus eingehen kann, wenn es statt filtriert zentrifugiert wird.

Das schon oben erwähnte Virus K wird zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mit einem Gemisch von Shiga-, Flexner- und Y-Bacillen fortgezüchtet. Geprüft gegen:

Nr. der Passagen	Datum	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
1	3. I. 1922	$+_4$	$+_4$	$+_2$	$+_4$
2	4. I. 1922	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_3$
3	5. I. 1922	$+_1$	$+_2$	$+_3$	0
4	6. I. 1922	0	$+_2$	$+_1$	0
5	7. I. 1922	0	$+_2$	$+_2$	0
6	8. I. 1922	0	$+_4$	$+_3$	0
8	10. I. 1922	$+_1$	$+_3$	$+_3$	0
10	12. I. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0
12	15. I. 1922	± (?)	$+_3$	$+_3$	0
14	18. I. 1922	0	± (?)	± (?)	0
16	20. I. 1922	0	0	0	0
20	25. I. 1922	0	0	0	0
30	14. II. 1922	0	0	0	0

Im Gegensatz dazu hat das Ausgangsvirus K, das in der oben angegebenen Weise weiter filtriert wurde, an Wirksamkeit bisher *nicht* eingebüßt.

Aus unseren vorstehenden Versuchen haben wir geschlossen, *daß das bacteriophage Virus von den Bakterien gebildet wird und kein besonderer Mikrobe, sondern ein Ferment ist, das an kleinste Bakterienteile gebunden ist.*

Von dieser Erwägung, daß das lytische Agens von *lebenden* Bakterien stammt, ausgehend, haben wir versucht, durch Eingriffe verschiedener Art die Bakterien zur Produktion des lytischen Agens zu veranlassen. Bei der Auswahl der Agenzien leitete uns die Vorstellung, *solche Stoffe zu nehmen, die geeignet erscheinen, die Bakterien so zu schädigen, daß sie lebend in kleinste, fermentativ-wirksame Eiweißteilchen zerfallen.*

Dazu verwandten wir:

1. antibakterielle Immunsera;
2. Bakterienautolysate aus lebenden Bakterien;
3. inaktivierte Bacteriophagen;
4. chemische Stoffe.

Die *Versuche*, nach Zusatz von *Immunserum* die Bildung des Lysins zu begünstigen, wurden in folgender Weise angestellt: Es wurden zu einem eben mit einer Spur Bakterienkultur beimpften Bouillonröhrchen 2 Tropfen des entsprechenden unverdünnten *Immunserums* gegeben und die Kultur nach 24stündiger Bebrütung bei 37° in der üblichen Weise zwecks Lysingewinnung (s. oben) verarbeitet.

Wir erhielten häufig auf diese Weise im Gegensatz zu den Kontrollversuchen *ohne* Serum Bacteriophagen, und zwar:

1.	mit	Flexnerbacillen	und	Flex.-Kan.-Imm.-Ser.	schon	nach	1	Passage
2.	„	Typhus- „	„	Typh.- „ „	„	„	3	Passagen
3.	„	Shiga- „	„	Shiga- „ „	„	„	2	„
4.	„	Y- „	„	Y- „ „	„	„	2	„

Die gewonnenen Filtrate waren wirksam:
im Falle 1 gegen Flexner- und Y.-Bacillen;
im Falle 4 gegen Flexner- und Y.-Bacillen;
im Falle 2 gegen Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusbacillen;
im Falle 3 gegen Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusbacillen.

Es gelang uns dagegen nicht die Gewinnung eines lytischen Agens aus Colibacillen mittels eines Coli-Immunserums, dessen Agglutinationstiter allerdings (im Gegensatz zu obigen Seren, bei denen er über 1 : 10 000 lag) nur 1 : 520 betrug. Ebensowenig konnten wir aus Flexner-Immunserum plus Pseudodysenterie A (von unserem Y-Serum stärker als von Flexner-Serum beeinflußt) das Agens gewinnen.

Zur Kontrolle haben wir Bouillon plus Immunserum bebrütet und filtriert. Die damit angestellten Virus-Züchtungsversuche fielen stets negativ aus.

Bei den Versuchen mit Bakteriolysaten, die nach der in der Arbeit von *Otto* und *Winkler* angegebenen Weise hergestellt waren, gaben wir einen Tropfen des Autolysates in ein frisch beimpftes Bouillon-



röhrchen; dieses wurde 24 Stunden bei 37° bebrütet, dann filtriert und im Plattenversuch geprüft. Während die Filtrate an sich, selbst unverdünnt, unwirksam waren, gaben die mit Autolysat versetzten Bouillonkulturen Lysin, und zwar:

1. Shigabacillen plus homol. Autolysat nach 4 Pass. gegen: Shiga-, Flexner-, Y-, Typhusbacillen.

2. Y-Bacillen plus homol. Autolysat nach 1 Passage gegen: Y-Bacillen.

3. Flexnerbacillen plus homol. Autolysat nach 2 Passagen gegen Flexner- und Y-Bacillen.

Keinen Erfolg hatten wir mit dieser Methode bei einem Colistamm (Mutaflor), dessen Filtrat zwar in der 2. Passage mit Mutaflor-Bacillen geringe lytische Wirkung (ca. 80 „negative Kolonien" [tâches vierges]) im Plattenversuch zeigte, bei dem aber eine Fortzüchtung des lytischen Agens nicht gelang. Andere Colistämme wurden überhaupt von dem Filtrat nicht beeinflußt. Außer bei Colibacillen fiel auch der Versuch, ein Lysin zu gewinnen, mit einem Autolysat bei einem echten Dysenteriestamm (*Förster*) negativ aus. Nur vorübergehend zeigte sich in der 6. Passage eine geringe Beeinflussung des Wachstums von Shiga-Kruse- und Typhusbacillen.

Versuche, auch den „inaktivierten" Bacteriophagen, ähnlich wie im vorstehenden die Bakterienautolysate, als Anreiz zur Lysis zu benutzen, lagen bei unserer Auffassung des *d'Hérelle*schen Virus nahe, zumal neuerdings *d'Hérelle* und *Pozerski* angegeben haben, daß durch Erhitzung unwirksam gewordene Bacteriophagen durch Passagen wieder wirksam geworden wären.

Das folgende Protokoll zeigt, daß ebenso, wie bei den Autolysaten, durch unwirksam gemachte Bacteriophagen die Lysinbildung aus Bakterienkulturen begünstigt wird.

18. II. 1922. 1 ccm hochwirksames Flexner-Lysin 23 wird 1 Stunde bei 80° erhitzt und erweist sich (19. II.) unwirksam. Von dem erhitzten Lysin werden

19. II. 1922 3 Tropfen zu einem Bouillonröhrchen, das mit Flexnerbacillen beimpft ist, getan. Passageweise Weiterzüchtung.

20. II. 1922. Filtration. (Passage 1.) Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen 0
21. II. 1922. Filtration. (Passage 2). Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen 0
22. II. 1922. Filtration. (Passage 3.) Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen 0
23. II. 1922. Filtration. (Passage 4.) Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen . . . . $+_4$
24. II. 1922. Filtration. (Passage 5.) Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen . . . . $+_4$
25. II. 1922. Filtration. (Passage 6.) Prüfung im Plattenverfahren auf Flexnerbacillen . . . . $+_4$

Die Kontrolle ohne inaktivierten Bacteriophagen ergibt in der 5. Passage zwar auch $\pm$-Wirkung (17 Kolonien), in der 6. Passage



ist sie aber erst maximal lytisch wirksam. Der Zusatz des inaktivierten Virus hatte also eine begünstigende Wirkung.

In ähnlicher Weise verliefen die Versuche bei Wiederholungen. Es wurde durch die Zugabe von Spuren des durch Hitze unwirksam gemachten Bacteriophagen die Lysinbildung (falls eine solche gelang) begünstigt. Aber auch *chemische Eingriffe* können (bei zweckmäßiger Dosierung) die Lysinbildung befördern. Als Beispiel wollen wir den folgenden Versuch mit Sublimat anführen, wobei jedoch zu bemerken ist, daß auf diese Weise eine Begünstigung der Lysinbildung *nicht regelmäßig* zu erzielen war.

8. I. 1922. Auf eine frisch mit Typhusbacillen beimpfte, noch nicht bebrütete Drigalskiplatte wird ein Tropfen einer Sublimatlösung 1 : 12 800 gebracht und die Platte dann 24 Stunden bei 37° bebrütet.

9. I. 1922. An der Stelle des Tropfens sind nur vereinzelte Kolonien gewachsen, die in Bouillonröhrchen übertragen werden. Bebrütung bei 37° C.

10. I. 1922. Filtration. Prüfung auf Lysin (11. I. 1922): $+_4$. Kontrolle: 0.

13. I. 1922. Auftropfen eines Tropfens Sublimat 1 : 3200 auf eine mit Shigabacillen frisch beimpfte Drigalskiplatte. Züchtung wie oben.

14. I. 1922. Ganz vereinzelte Kolonien auf der Platte gewachsen. Überimpfung in Bouillon. Bebrütung bei 37°.

15. I. 1922.	Filtration.	(1. Passage.)	Prüfung auf Lysin	0	Kontrolle: 0
16. I. 1922.	„	(2. „)	„ „ „	0	„ 0
17. I. 1922.	„	(3. „)	„ „ „	0	„ 0
18. I. 1922.	„	(4. „)	„ „ „	$+_2$	„ 0
19. I. 1922.	„	(5. „)	„ „ „	$+_4$	„ 0

N. B. Kontrolle ist erst nach der 10. Passage positiv.

Aus vorstehenden Versuchen ergibt sich also die Tatsache, *daß Eingriffe verschiedenster Art, die die lebenden Bakterien schädigen, geeignet sind, die Lysinbildung zu begünstigen.*

Unsere Versuchsergebnisse entsprechen denen von *Kuttner*, der annahm, daß das bacteriophage Prinzip *d'Hérelles* möglicherweise auf Freimachung von Autolysinen der Bakterien beruhe. Er versuchte, ob man ohne Tierversuch bzw. ohne Mitwirkung des menschlichen Körpers ein bacteriophages Prinzip bei Kulturen aus Typhusbacillen erzeugen könne. Er fand hierzu Dünndarm- und Leberextrakte, die in besonderer Weise gewonnen wurden, wirksam. Setzte er solche Extrakte Bouillonkulturen von Typhusbacillen zu, so zeigten sie Aufhellung und bei Aussaat nach Erhitzen bei 55° regelmäßige und unregelmäßige Kolonien. Die letzteren waren Träger des bacteriolytischen Prinzipes, das sich von Generation zu Generation weiter übertragen ließ. Spontanes Auftreten derartiger Kolonien wurde nie beobachtet.

Spezifität des Virus.

Schon in der ersten Mitteilung hatten wir (*Otto* und *Munter*) angegeben, daß eine *gewisse Spezifität des Virus zweifellos besteht.* Aber es gibt neben spezifischen, z. B. nur gegen Flexner- und Y-Bacillen wirkenden Lysinen, auch polyvalente, die gleichzeitig auch auf Typhus- und Shigabacillen einwirkten. Interessant war es dabei, daß Shiga-



lysine meist nicht auf Y- und Flexner-Bacillen, wohl aber auf Typhusbacillen wirkten.

Spezifitätsänderungen des Virus konnten mitunter durch geeignete Umzüchtungen erreicht werden. Allerdings war uns eine solche Änderung nicht regelmäßig möglich. Selbst bei dem gleichen Virus und denselben Bakterien gelang ein solcher Versuch an manchen Tagen nicht, während er an anderen ohne weiteres positiv verlief. Es müssen hier irgendwelche Momente eine Rolle spielen, die wir bisher noch nicht beherrschen. Als Beispiel mögen folgende Versuche dienen, die mit unserm Y-Flexner-Virus 2 und Typhusbacillen ausgeführt wurden und jedesmal einen anderen Ausschlag gaben.

24. XI. 1921. Das (schon früher erwähnte) Flexner-Y-Virus 2 wird von heute ab in einer besonderen Passagereihe mit Typhusbacillen fortgezüchtet.

Versuch 1. Prüfung des Ausgangsvirus.

Datum		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
	Kontrolle	0	$+_4$	$+_4$	0
25. XI. 1921	1 Passage mit Typhusbacillen	0	$+_3$	$+_1$	$+_3$
26. XI. 1921	2 „ „ „	$+_4$	$\pm$	$+_3$	$+_4$
27. XI. 1921	3 „ „ „	$+_3$	$\pm$	$+_1$	$+_4$
29. XI. 1921	5 „ „ „	$+_4$	0	0	$+_4$
3. XII. 1921	8 „ „ „	$+_4$	0	0	$+_4$

27. XI. 1921 Versuch 2 in gleicher Weise wie oben ausgeführt: Fortzüchtung mit Typhusbacillen.

Datum		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
	Kontrolle	0	$+_4$	$+_4$	0
28. XI. 1921	1 Passage mit Typhusbacillen	$+_1$	$+_4$	$+_4$	$+_2$
29. XI. 1921	2 „ „ „	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
5. XII. 1921	6 „ „ „	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
8. XII. 1921	8 „ „ „	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$

30. XI. 1921. Versuch 3 in gleicher Weise wie oben ausgeführt: Fortzüchtung mit Typhusbacillen.

Datum		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
	Kontrolle	0	$+_4$	$+_4$	0
1. XII. 1921	1 Passage mit Typhusbacillen	0	$+_3$	$+_4$	0
3. XII. 1921	3 „ „ „	0	0	$+_1$	0
5. XII. 1921	5 „ „ „	0	0	0	0
7. XII. 1921	7 „ „ „	0	0	0	0

Während also das Ausgangsvirus 2, das anfangs nur gegen Flexner- und Y-Bacillen wirkte, sich bei der 1. Weiterzüchtung mit Typhusbacillen auf Shiga- und Typhusbacillen einstellte und seine Wirksam-



keit gegen Flexner und Y-Bacillen verlor, blieb bei dem 2. Umzüchtungsversuch die lytische Wirkung gegen diese Bacillen auch nach dem Auftreten von Shiga- und Typhuslysinen völlig erhalten, so daß es jetzt polyvalent gegen Shiga-, Flexner-, Y- und Typhusbakterien wirkte. Bei der 3. Umzüchtung trat nicht nur keine Wirkung gegen Typhus und Shigabacillen auf, es verlor sich sogar die bacteriophage Wirkung gegen Flexner- und Y-Bacillen. Worauf dieses Versagen beruhte, gelang uns nicht aufzuklären. Jedenfalls mahnen diese Versuche, die mit demselben Material nur an verschiedenen Tagen angestellt wurden, zur Vorsicht bei der Verwertung der einzelnen Versuchsresultate[1]).

Die Angaben *d'Hérelles*, daß sich ein Virus monatelang *unverändert aufbewahren* läßt, können wir nach unseren Versuchen bestätigen.

Je 2 ccm Virus (von demselben Filtrat) werden in sterile Uhlenhuth-Röhrchen abgefüllt, die Röhrchen zugeschmolzen, nach dem Zuschmelzen $^1/_2$ Stunde im Wasserbad bei 58° gehalten. Diese Röhrchen werden sodann teilweise bei 8°, teilweise bei 22° oder bei 37° aufbewahrt. Von Zeit zu Zeit folgten vergleichende Prüfungen der einzelnen Röhrchen. Irgendeinen Unterschied im Einfluß dieser drei Aufbewahrungstemperaturen haben wir nicht feststellen können. Wir geben daher nur ein Protokoll über die Aufbewahrung bei 22°. Die Prüfung des Virus fand im Plattenverfahren in 4wöchentlichen Abständen statt.

Virus 2 (Flexner, Y) aufbewahrt bei Zimmertemperatur (22° C).

	Wirkung auf			
	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
hergestellt: Juli 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
geprüft am 15. VIII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
„ „ 16. IX. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
„ „ 15. X. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
„ „ 15. XI. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
„ „ 16. XII. 1921	0	$+_4$	$+_4$	0
„ „ 15. I. 1922	0	$+_4$	$+_4$	0

Im Verlaufe von 6 Monaten hat sich also das Virus in seiner Wirkung nicht abgeschwächt. Wir möchten aber dabei bemerken, daß das Virus in einzelnen Röhrchen eine geringe oder ganz aufgehobene Wirkung zeigte. Die dann sofort vorgenommene Nachuntersuchung mit einem anderen Virusröhrchen bewies, daß keine Abnahme der lytischen Kraft

[1]) Die Deutung des Versuchsergebnisses 2 ist nicht ganz einfach. Man kann wohl annehmen, daß besonders hochwirksame bacteriophage Lysine unverdünnt übergreifen und weniger spezifisch sind. Auch bei Immunseren kommt ja die spezifische Wirkung häufig erst bei den Verdünnungen klar zum Ausdruck. Im vorliegenden Falle ist leider eine Austitrierung nicht erfolgt.

vorlag. Worauf dies Versagen einzelner Röhrchen beruhte, ist nicht aufgeklärt. Wir nehmen an, daß die Verschiedenheit des Versuchs in diesen Fällen nicht in dem Virus, sondern in den verwandten Prüfungskulturen lag. Auch beim Aufbewahren des Virus bei 8 und 37° haben wir mitunter teilweises oder völliges Versagen des Virus beobachten können, während in den meisten Röhrchen sich das Virus in seiner Wirkung konstant erhielt.

Daß eine gelegentliche Abschwächung des Virus vorkommen mag, ist möglich. Für biologische Schwankungen der Testkulturen sprach aber die Tatsache, daß wir auch bei anderen Versuchen an vereinzelten Tagen sehr schlechte und abweichende Resultate erhielten. So kam es z. B. vor, daß an einem Tag unsere sämtlichen Virusarten gegen Flexner keinen Ausschlag gaben, während Y-Bacillen (im großen und ganzen gaben Prüfungen gegen Flexner und Y die gleichen Resultate) stark beeinflußt wurden. Am nächsten Tage hatte sich dann die Beeinflußbarkeit der betreffenden Bakterien wiederhergestellt. Nur einmal wurde ein Flexnerstamm (Fl.-Sammlung) von einem bestimmten Zeitpunkte ab spontan so widerstandsfähig gegen alle Virusarten, daß er von diesem Termin ab ganz ungenaue Resultate lieferte. Wir mußten ihn als Testkultur ausschalten. Die genaue Prüfung des spontan resistent gewordenen Stammes ergab sonst weder in biologischer noch in serologischer Beziehung Abweichung von der Norm. Insbesondere war sein Agglutinationsvermögen nicht beeinflußt worden.

Die sichere Ursache für das spontane Resistentwerden des Stammes haben wir bisher nicht erkennen können. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, sie in irgendeiner unbekannten Veränderung des Nährbodens zu suchen.

Von diesem spontanen Resistentwerden muß das *Resistentwerden der Bakterien gegen das Virus unter dem Einfluß des Virus* scharf getrennt werden. Über Stämme, die unter dem Einfluß des Virus resistent geworden waren, haben wir schon in unserer ersten Arbeit kurz berichtet. Wir erwähnten dort bereits das veränderte Wachstum solcher Kolonien (Flatterform, Hauptform und Nebenform nach *Gildemeister*), die Veränderungen des einzelnen Bakterienindividuums (die mitunter zu beobachten sind) und die Widerstandsfähigkeit gegen Virus, die sich auch häufig auf die nachfolgenden Generationen übertragen läßt, sowie das Vermögen der resistenten Keime, Virus zu bilden. Auch auffallende Veränderungen anderer Art hatten wir daselbst erwähnt, so die Eigenschaft je eines Typhus- und eines Flexnerstammes, die unter dem Einfluß des Virus den Drigalski-Conradi-Nährboden mehr oder weniger röteten.

So weitgehende Veränderungen haben wir bei den spontan resistent gewordenen Stämmen niemals beobachtet. Immerhin genügen die geringen Abweichungen von der Norm, Fehlresultate zu begünstigen und es empfiehlt sich aus diesem Grunde, jedes Virus gegen mehrere Stämme der gleichen Art zu prüfen (vgl. auch S. 145—147).

Das Verhalten des Virus chemischen Stoffen und veränderten physikalischen Bedingungen gegenüber ist von vielen Untersuchern geprüft worden.

Gratia stellte fest, daß die Wirkungsweise seiner Virusarten von der „H"-Ionenkonzentration der Nährflüssigkeit abhängt. Bei einem gegen Coli gerichteten Virus war die Wirkung am stärksten bei alkalischer Reaktion (p_H 8,5), am schwächsten bei saurer Reaktion (p_H 6,8) und mäßig bei neutraler (p_H 7,5). Wir halten



diese Befunde[1]) besonders deshalb für wichtig, weil sie bei evtl. therapeutischer Verwendung am Krankenbett, z. B. bei stomachaler Einverleibung, in Rechnung gezogen werden müssen.

Da wir selbst über die Resistenz des Virus gegen Chemikalien keine größeren Erfahrungen besitzen, wollen wir hier kurz auf die Versuchsergebnisse anderer Autoren näher hinweisen.

Bablet fand, daß das Virus in 1 proz. Fluornatriumlösung rasch zugrunde geht; reichlichen Chloroformzusatz vertrug es bei gleichzeitigem Schütteln nicht. In reinem Glycerin ging es nach 8 Tagen bei 37° zugrunde.

Nach *Poorter* und *Maisin* wird das Virus durch Einwirkung von Thymol, Kreolin, gesättigter Fluornatriumlösung *nicht* zerstört, ebensowenig durch Äther, 50 proz. Alkohol, Aceton und Chloroform. Dabei weisen die Autoren darauf hin, daß nach *Artus* eine 1 proz. Fluornatriumlösung jede vitale Aktivität unterdrückt. Das Virus sei nicht dialysabel, es werde durch Ammonsulfat gefällt und von Tierkohle adsorbiert. Unlöslich ist es in Äther, Petroleum und Chloroform. Durch 94 proz. Alkohol wird es zerstört und gefällt. Sein ganzes Verhalten entspricht demnach dem eines Eiweißkörpers. 2 proz. Cyanwasserstoffsäure ist ohne Wirkung. Fuchsin und Methylenblau in gesättigter wässeriger Lösung zerstören das lytische Prinzip. Methylorange und Eosin lassen es intakt. Säuren werden besser vertragen als Alkalien. Coffein, Morphin und Strychnin sind ohne Wirkung. Auf Grund dieser Befunde rechnen *Poorter* und *Maisin* das Virus zu den Enzymoiden (vgl. S. 120).

Eliava und *Pozerski* fanden gleichfalls, daß Carbolsäure und Fluornatriumlösung selbst in Konzentration von 2,5% das Virus nicht schädigen. Chininum hydrochloricum ruft bei einer Konzentration von 0,5% keine Schädigung hervor, dagegen bei 0,75% eine teilweise und bei 1,0% eine völlige Zerstörung. Besondere Versuche zeigten, daß dieser Ausfall nicht auf die starke „H"-Ionenkonzentration des Chininum hydrochloricum zurückzuführen ist, sondern auf das Chinin an sich. Unter den gleichen Versuchsbedingungen soll sonst Chinin nicht auf lösliche Fermente einwirken.

Nach *Watanabe* ist das Virus gegen Carbol sehr resistent. 0,5% Carbol ruft keine Wirkung hervor. 2,5% Carbol verhindert die augenblickliche Wirkung, schädigt es aber nicht in seiner Fortpflanzungsfähigkeit. Ein gegen Rindercoli gerichteter Bacteriophage erwies sich als noch widerstandsfähiger. 0,2% Salicylsäure verhindert nicht die Fortpflanzungsfähigkeit. 2% Lysol hat keine Wirkung auf den Bacteriophagen, 96 proz. Alkohol nur geringe. 20% Soda zerstört die Wirkung. 15tägige Trocknung ist ohne jeden Einfluß. Das Verhalten der einzelnen Virusarten unterliegt aber großen Schwankungen.

Nach *Rimpau* wird die Wirksamkeit eines Filtrates durch Eintrocknen im *Faust-Heim*schen Apparat nicht zerstört.

Im folgenden wollen wir einige unserer Protokolle über Versuche wiedergeben, die sich mit der Fortzüchtbarkeit eines Virus in verschieden stark carbolhaltiger Bouillon befassen. Zu den folgenden Versuchen ist das Virus Flexner 1 benutzt. Er wirkte gegen Flexner- und Y-Bacillen maximal, während Shiga- und Typhusbacillen nicht beeinflußt werden.

23. IX. 1921. Zu 2 ccm einer 0,1 proz. Carbolbouillon werden 0,1 ccm Flexnervirus und $^1/_{10}$ Öse Flexnerbacillen hinzugetan. 24 Stunden Bebrütung bei 37° C. Filtration. Serienweises Fortzüchten mit Flexnerbacillen. Geprüft gegen:

[1]) Unser Fl.-Virus 23 ging in saurer Bouillon (p_H 6,0 und 6,5) zugrunde, während es sich in alkalischer Bouillon (p_H 8,5) unverändert hielt.



	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Ausgangsvirus (25. IX.)	0	$+_4$	$+_4$	0
1. Passage 26. IX. . .	0	$+_4$	$+_4$	0
3. „ 29. IX. . .	0	$+_3$	$+_2$	0
7. „ 6. X. . .	0	$+_4$	$+_4$	0
10. „ 12. X. . .	0	$+_4$	$+_4$	0
15. „ 20. X. . .	0	$+_4$	$+_4$	0

Der Versuch ergibt, *daß durch 0,1 proz. Carbolzusatz ein Einfluß auf die Virusbildung nicht ausgeübt wird.*

Wiederholung des gleichen Versuches mit 0,5% Carbolbouillon.

	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Ausgangsvirus (23. IX.) .	0	$+_4$	$+_4$	0
1. Passage 26. IX. . . .	0	$+_2$	$+_3$	0
3. „ 29. IX. . . .	0	$\pm$	$+_1$	0
5. „ 4. X. . . .	0	0	0	0
7. „ 6. X. . . .	0	0	0	0

Ergebnis: In der 1. und 3. Passage deutlich zunehmende Abschwächung der Viruswirkung. Von der 5. Passage ab ist eine Viruswirkung nicht mehr nachweisbar. *In 0,5 proz. Carbolbouillon ist also ein Fortzüchten des Virus nicht möglich gewesen.*

Das Ergebnis dieses Versuches findet eine einfache Erklärung darin, daß unser Flexnerstamm durch 0,5proz. Carbolsäure abgetötet wurde. Es konnte also auch kein Lysin gebildet werden, da hierzu lebende und vermehrungsfähige Keime gehören. Dagegen ist das Virus an sich in 0,5% Carbolbouillon durchaus haltbar.

Da von *d'Hérelle* wiederholt auf die *verschiedene Hitzebeständigkeit* seiner „*Bacteriophagen*" und des *Twortschen Virus* hingewiesen ist, so dürften einige Versuche über die Hitzebeständigkeit des Bacteriophagen von Interesse sein. Wir haben eine größere Anzahl wirksamer Filtrate in der Weise untersucht, daß wir sie im Wasserbade ($^1/_2$stündlich) auf verschiedene Temperaturen erhitzten und dann im Plattenverfahren auf ihre Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Bakterien prüften.

Datum	Bezeichnung des Virus	geprüft gegen			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
16. I. 1922	Virus Y.-B. erhitzt auf 65° . . .	$+_1$?	$+_4$	$+_4$	$\pm$?
	„ „ „ „ 68° . . .	0	$+_4$	$+_4$	0
	„ „ „ „ 72° . . .	0	0	$\pm$3 Ko	0
	„ „ „ „ 75° . . .	0	0	0	0
16. I. 1922	Virus Typhus 2 erhitzt auf 65° .	$+_2$	$+_1$	$+_1$	$\pm$
	„ „ „ „ 68° .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 72° .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 75° .	0	0	0	0

Datum	Bezeichnung des Virus	geprüft gegen			
		Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
16. I. 1922	Virus Typhus-B. erhitzt auf 65° .	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
	„ „ „ „ 68° .	$+_4$	$+_4$	$+_4$	0
	„ „ „ „ 72° .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 75° .	0	0	0	0
16. I. 1922	Virus Sh.-Po. erhitzt auf 65° . .	$+_2$	$+_{2/1}$	$+_{2/1}$	$+_2$
	„ „ „ „ 68° . .	$+_1$	0	$+_1$	0
	„ „ „ „ 72° . .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 75° . .	0	0	0	0
16. I. 1922	Virus Flexner 23 erhitzt auf 65° .	0	$+_4$	$+_4$	0
	„ „ „ „ 68° .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 72° .	0	0	0	0
	„ „ „ „ 75° .	0	0	0	0

Wir sehen aus diesem Versuch: 1. daß die von uns *geprüften Virusarten sich ganz verschieden verhalten* hinsichtlich ihrer Hitzewiderstandsfähigkeit und 2. daß der *einzelne Bacteriophage*, z. B. Virus-Y-B. *nach Erhitzen* auf 68° *für Y- und Flexnerbacillen noch maximal wirksam war, während er gegenüber Shiga- und Typhusbacillen völlig unwirksam wurde.*

Nachstehend geben wir Zusammenstellung von drei weiteren Versuchen, aus denen sich dieselben Resultate wie aus Versuch 1 ergaben. Die angeführten Zahlen bedeuten die höchste Temperatur, bei denen in dem betreffenden Versuch noch bacteriophage Wirkung nachweisbar war.

Virusart	geprüft gegen	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Bemerkungen
Y. B.	Sh.-Bacillen	58	68	65	
	Fl.- „	75	72	72	
	Y- „	68	75	72	
	Ty.- „	—	68	68	— = nicht
Vir. 2	Sh.- „	0	0	—	geprüft
	Fl.- „	68	68	—	
	Y- „	68	68	—	
	Ty.- „	0	0	—	0 = keine
Ty. B.	Sh.- „	72	58	68	Lysinwirkung
	Fl.- „	65	68	72	
	Y- „	65	68	68	
	Ty.- „	68	65	68	
Fl. 23	Sh.- „	0	0	0	
	Fl.- „	72	68	75	
	Y- „	68	68	72	
	Ty.- „	0	0	0	
Sh. B.	Sh.- „	72	72	75	
	Fl.- „	68	72	75	
	Y- „	72	72	75	
	Ty.- „	72	75	75	
Y. 61	Sh.- „	0	0	0	
	Fl.- „	72	72	75	
	Y- „	68	68	72	
	Ty.- „	0	0	0	

Verhältnismäßig wenig widerstandsfähig war Virus 2, während Shiga-B. ziemlich hitzeresistent ist. Auch in diesen Versuchen zeigt Virus-Y-B. starke Unterschiede in seiner Wirksamkeit gegenüber den einzelnen Bakterienarten.

Besonders hinweisen möchten wir zum Schluß nochmals auf das Schwanken des einzelnen Virus in den verschiedenen Versuchen.

Beziehungen zwischen Virus und Bakterien.

Unter dem Einfluß des Virus können die Bakterien weitgehende Veränderungen erleiden. Mikroskopisch stellt sich der Vorgang der Bacillenauflösung

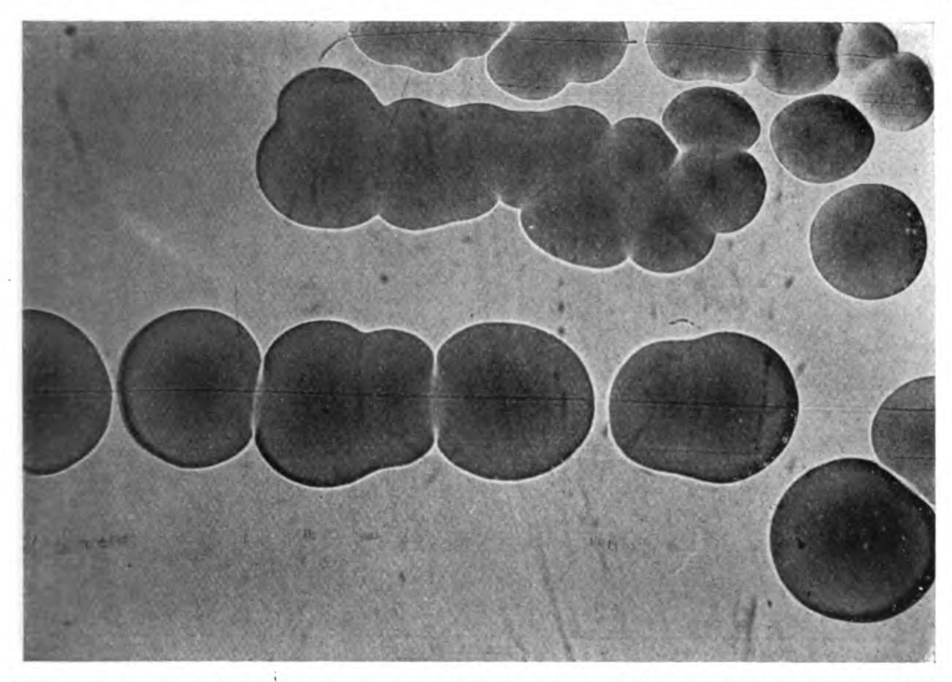


Abb. 4. Einzelne Kolonien einer normalwachsenden Typhuskultur auf Drigalski-Conradi-Nährboden (Agarplatte).

nach *d'Hérelle* so dar, daß zuerst zahlreiche intrabacilläre Körnchen auftreten. Die Bacillen werden kugelig. Sie zerfallen sodann in lauter kleine, nach *Giemsa* färbbare Körnchen. Da sich jedoch die Bacillen dem Bacteriophagen gegenüber nicht passiv verhalten, sondern der „Infektion" zu widerstehen versuchen, so erreicht ein Teil von ihnen eine völlige Immunität, die sich auch auf ihre Nachkommen vererben kann. So kommen die „resistenten Keime" zustande, vielfach erkenntlich an ihren Kolonien, die sich oft schon makroskopisch von der Ausgangskultur unterscheiden („Flatterformen", vgl. auch S. 141). Derartige experimentell durch Lysineinwirkung aus normal wachsenden Typhuskeimen von uns gewonnene „Flatterformen" zeigen die Abb. 4 und 5.

Wie *Debré* und *Haguenau* betonen, kann das Auftreten der resistenten Keime trotz völliger Aktivität des Virus vor sich gehen.

Nach *Gratia* finden sich sowohl in alten Normal-Colikulturen als auch in Colikulturen, die Virus enthalten, zwei verschiedene Typen von Kolonien, eine gegen das Virus empfindliche sensible (S-Form) und eine andere, die resistent ist



(R-Form). Der empfindliche Typ soll in künstlichen Medien schnell wachsen und unbeweglich sein. Der resistente Typ sei äußerst beweglich und schwer phagocytabel. In ihren chemischen Leistungen unterscheiden sie sich nicht. Sie bewahren ihren Charakter bei der Meerschweinchenpassage. Auch innerhalb der einzelnen Typen besteht keine Einheitlichkeit der einzelnen Individuen. Daher übt das lytische Agens in stärkster Verdünnung auf einer mit Coli beimpften Platte seine Wirkung nur an bestimmter Stelle aus, die als kleine runde unbewachsene Stellen erscheinen (die *d'Hérelle* als „Kolonien" seines „Bakteriophagen" deutet). Die S-Form gibt in Bouillon einen flockigen, die R-Form einen schleimigen Bodensatz. Letztere liefert ein hämorrhagisch-seröses, bacillenreiches und leukocytenarmes Peritoneal-

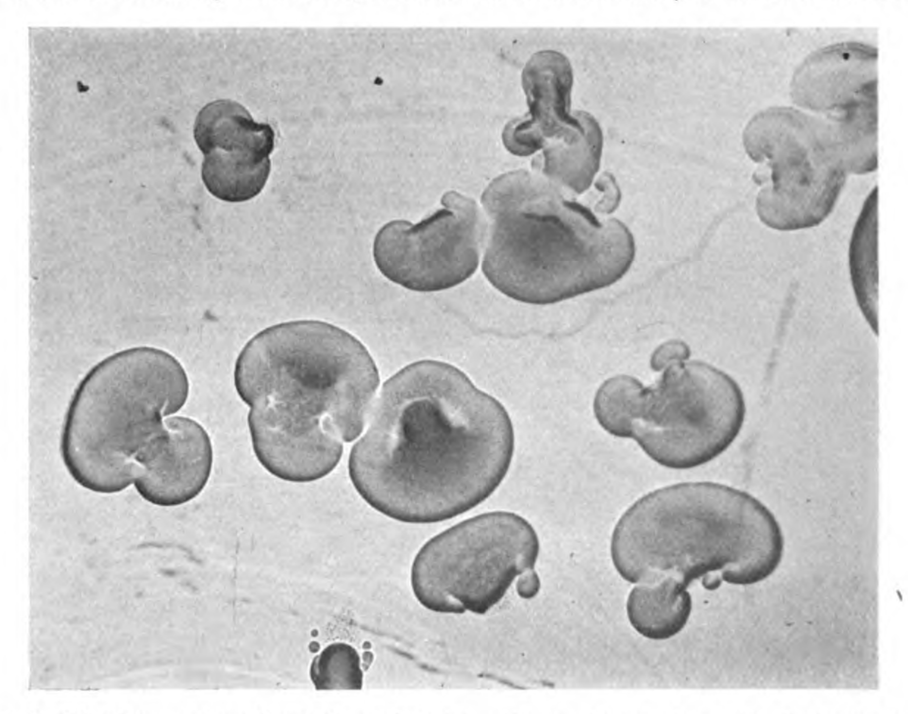


Abb. 5. Kolonien von derselben Kultur wie bei 4. Die zur Aussaat benutzten Typhusbacillen sind vorher kurze Zeit mit Typhuslysin digeriert worden.

exsudat, die erstere dagegen ein fibrinös-eitriges, von Bacillen im allgemeinen freies, leukocytenreiches Exsudat (bei intraperitonealer Injektion). Makroskopisch soll man die resistente Form als glasige Stecknadelköpfchen auf der glanzlosen, gleichförmigen Bakterienhaut erkennen. Die R-Form liefert Rückschläge in die Normalform.

Unter den resistenten Formen sahen *Bruynoghe* und *Maisin* zwei verschiedene Arten, die eine, seltenere, wird selbst zum Träger der lytischen Fähigkeit, die sie auf andere übertragen kann, während die andere nur lysoresistent ist.

Nach *Eliava* und *Pozerski* bilden die resistenten Kolonien im Gegensatz zu den normalen keine Trübung, sondern einen Bodensatz. Mikroskopisch erinnern sie mehr an Kokkobacillen. Ihre Agglutinabilität gegen Antiserum sei stark herabgesetzt.

Nach den Befunden von *Bruynoghe* können die resistent gewordenen Keime bei mehrfacher Überimpfung im Laufe der Zeit sowohl die Eigenschaft, das Virus zu produzieren, als auch ihre Widerstandsfähigkeit gegen dieses verlieren. Weder die Fähigkeit der Produktion noch die Resistenz bilden also definitive Eigenschaften der resistenten Keime. Sie können normal werden, wenn sie nicht dem Einfluß des Virus ausgesetzt sind. Werden die resistenten Keime mit antilytischem

Serum behandelt, so stellt sich der Normalzustand schneller wieder ein. Ähnlich, nur schwächer, wirkt normales Kaninchenserum.

Über ähnliche Versuchsergebnisse berichten auch *Bordet* und *Ciuca*.

Was nun unsere eigenen Erfahrungen betrifft, so konnten wir bei positiven Plattenversuchen häufig „resistente" Kolonien beobachten, die in dem sonst durch die Wirkung des lytischen Agens ausgesparten Teile des Bakterienrasens standen. Im ganzen haben wir 12 verschiedene Stämme näher untersucht. Wir beobachten bei ihnen vielfach nur sehr zartes Wachstum, einmal auch als Flatterformen. Nicht immer waren die Stämme auch Virusträger. Nur etwa zur Hälfte gaben die Filtrate der untersuchten Stämme ein lytisches Agens, dann aber regelmäßig schon in der 1. Passage, bei den anderen fanden wir selbst nach 10—12 Passagen kein bacteriophages Lysin. Unsere resistenten Stämme werden von den verschiedensten „Bacteriophagen" im allgemeinen nicht angegriffen; nur in 2 Fällen fanden wir eine geringe Beeinflussung durch bestimmte Virusarten, und zwar war der Typhus-Stamm R 9 z. B. resistent gegen ein nach dem Verfahren von *Bordet* und *Ciuca* gewonnenes Typhusvirus, wenig resistent dagegen gegen ein aus alter Typhusbouillon hergestelltes Virus. Stamm Flexner R 11 war resistent gegen die verschiedensten Virusarten, wurde aber von Virus Fl 19 doch gering beeinflußt.

Es gelang uns nicht, wie *Twort* bei seinen Versuchen mit Kokken, gesunde Kolonien mit kranken zu beimpfen und so ihren Zerfall zu veranlassen. Wir beobachten nur folgendes: Beimpft man eine Drigalski-Platte zur Hälfte strichweise mit einem zarten, virustragenden, resistenten Stamm und sodann in rechtwinklig zulaufenden Strichen mit einem normalen Stamm, so wächst dieser letztere üppig, aber dort, wo er über den zarten, resistenten Stamm geimpft ist, gehen keine Kolonien an.

Mikroskopisch konnten wir bei den resistenten Kolonien keine morphologischen Änderungen nachweisen.

Verbleib des Virus im Tierkörper.

Verleibt man einem Individuum das lytische Agens parenteral ein, so kann man es später in seinem Blutserum wiederfinden. Bei den intraperitoneal mit Bakterien vorbehandelten Meerschweinchen läßt es sich nicht nur in der Bauchhöhle, sondern *im ganzen Körper nachweisen*. Es verbreitet sich, dem Körper einverleibt, sehr rasch. Als Beispiel sei der nachfolgende Versuch angeführt.

12. X. 21. Meerschweinchen 3133[1]) erhält $^1/_{20}$ Öse Flexnerbacillen i. p. Herzpunktion nach 7 Stunden. Das Blut wird zentrifugiert und ein Tropfen des Serums in ein mit frischen Flexnerbacillen beimpftes Bouillon-

[1]) Das Blut des Meerschweinchens enthielt, wie der folgende Kontrollversuch mit der am 11. X. 1921 (*vor der Behandlung*) entnommenen Blutprobe ergab, kein Lysin gegen Flexnerbacillen.



röhrchen getan. Die Röhrchen werden bei 37° bebrütet und Passagen in der üblichen Weise fortgeführt. Prüfung auf lytische Eigenschaften im Plattenversuch. Das nachstehende Protokoll gibt die Resultate wieder.

Untersuchung des Blutes auf lytische Eigenschaften: Mee. 3133.

I. Blutprobe vor der Behandlung					II. Blutprobe: 7 Std. nach Injektion von 1/20 Oe. Fl. i. p.			
Nr.	Datum	Flexner bacillen	Shiga-bacillen	Y-Bacillen	Nr.	Flexner-bacillen	Shiga-bacillen	Y-Bacillen
1	11. X.	0	0	0				
2	12. X.	0	0	0				
3	13. X.	0	0	0	1	0	0	0
4	14. X.	0	0	0	2	+		+
5	15. X.	0	0	0	3	+		+

Ergebnis: Die Passagen mit Blutprobe II ergaben am 14. X. Lysin. Dieses hat sich auf die intraperitoneale Injektion von Flexnerbacillen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens 3133 gebildet und war also nach 7 Stunden in dem Blutserum nachweisbar.

Wirkung in Faeces.

D'Hérelle hatte die Ansicht vertreten, daß das Verschwinden der Bakterien in den Krankendejekten mit dem Auftreten des Virus im Zusammenhang stehen müsse. Wir haben nun, um die Frage zu klären, inwiefern das Virus eine Rolle beim Verschwinden der Bakterien spielen kann, Versuche in der Weise angestellt, daß wir normalen Faeces Virus zusetzten und dann dessen Wirkung auf eingesäte Typhusbacillen verfolgten.

Folgende Versuchsprotokolle seien hier wiedergegeben:

Frische Normalfaeces werden bis zur breiigen Konsistenz mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und damit 4 *Röhrchen* (mit je 1 ccm) beschickt.

Röhrchen 1 bleibt ohne Zusatz (Kontrolle).

Zu *Röhrchen 2* wird ein Tropfen Virus „Typhusbouillon" (Titer 1 : 10^{15}) hinzugetan.

Zu *Röhrchen 3* ein Tropfen Typhusbacillenaufschwemmung. (1 Öse auf 5 ccm.)

Zu *Röhrchen 4* je ein Tropfen Typhusbouillonvirus plus ein Tropfen Typhusbacillenaufschwemmung.

In bestimmten Zeitintervallen wird nun von diesen Gemischen, die bei Zimmertemperatur gehalten werden, auf Drigalski-Conradi-Nährböden abgeimpft.

Es ergab sich folgendes Resultat:

Röhrchen	1.	2.	3.	4.
Bei Abimpf. n. 30 Min.	2 Koli	1 Koli	2 Koli + ∞ Typh.	2 Koli + ∞ Typhus *)
„ „ „ 1 Std.	1 „	2 „	2 „ + ∞ „	1 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 1½ „	3 „	4 „	2 „ + ∞ „	1 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 2 „	3 „	1 „	3 „ + ∞ „	1 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 2½ „	3 „	3 „	2 „ + ∞ „	3 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 3 „	3 „	3 „	4 „ + ∞ „	4 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 3½ „	4 „	2 „	3 „ + ∞ „	3 „ + ∞ „ *)
„ „ „ 18 „	10 „	10 „	15 „ + ∞ „	15 „ + ∞ „ **)
„ „ „ 25 „	10 „	10 „	15 „ + ∞ „	15 „ + sehr reichl. Typh.**)
„ „ „ 42 „	reichl. „	reichl. „	∞ „ + ∞ „	∞ „ + zirka 50 **)

*) Typhusrasen mit táches vierges. **) Typhuskolonien wachsen in „Flatterform".



Anfangs ist ein Einfluß des Virus auf das Wachstum der Typhusbacillen aus dem Stuhl nicht zu erkennen. Erst nach 42 Stunden ist ein deutlicher Unterschied zwischen den Röhrchen 3 und 4 aufgetreten. Während in dem Kontrollröhrchen 3 die Typhusbacillen noch unverändert weiter gewachsen sind, sind dann in dem Röhrchen 4 nur noch mäßig viel Typhusbakterien vorhanden. Trotz der hochgradigen Wirkungsstärke des Virus sind sie aber nicht völlig abgetötet worden, wiewohl sie sichtlich unter der Einwirkung des Virus in ihrer Keimfähigkeit geschädigt sind. Als Ausdruck hierfür mußten auch die zahlreichen Flatterformen und „Löcher" (tâches vierges) angesehen werden, über deren Bedeutung schon oben gesprochen worden ist.

In einem anderen Versuch mit denselben Bakterien und dem gleichen Virus, den wir hier nicht ausführlich wiedergeben wollen, war das Resultat in den ersten 4 Stunden ein ähnliches. Nach 24 Stunden ging in Röhrchen 4 die Zahl der Typhuskolonien gegenüber der Kontrolle ebenfalls zurück. Nach 30 Stunden waren aber in Röhrchen 4 keine Typhusbacillen mehr nachweisbar, auch nicht im Galleanreicherungsverfahren. In Röhrchen 3 waren die Bedingungen für die Erhaltung der Typhuskeime allerdings nach 60 Stunden auch so ungünstig geworden, daß sich Typhusbacillen nicht mehr nachweisen ließen.

Wir schließen aus diesen Versuchen, die in ihrem Ergebnis mit anderen, auch bei Verwendung von Ruhrbacillen und Ruhrvirus erhaltenen Resultaten übereinstimmen, daß in normalen Faeces für das Zugrundegehen der pathogenen Bakterien das „Virus" nicht allein die ausschlaggebende Rolle spielen kann, die *d'Hérelle* ihm bei Ruhr zuspricht.

Die nachstehenden Versuche zeigen vielmehr, daß die Wirkung des Virus, welches zu einer Aufschwemmung Normalfaeces hinzugetan wird, zum großen Teil von den Faeces aufgehoben wird. Anders liegen die Verhältnisse vielleicht bei den anormalen Stühlen Darmkranker.

Normale Faeces (in der Menge von einer Erbse) werden in 10 ccm Bouillon verrieben. Zu dieser Aufschwemmung werden 3 Tropfen eines hochwirksamen Typhusvirus hinzugetan. (Röhrchen 1.)

Als Kontrolle dienen 10 ccm derselben Bouillon mit 3 Tropfen desselben Typhusvirus. (Röhrchen 2.)

Beide Röhrchen werden 24 Stunden bei 22° gehalten und sodann 2 Stunden bei 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert.

Die überstehende Flüssigkeit wird auf Virus geprüft:

	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Faeces mit Virus (R. 1)	0	0	0	0
Bouillon mit Virus (R. 2) . . .	$+_2$	$+_2$	$+_2$	$+_2$

Auch aus dem folgenden Versuch geht eine deutliche Abnahme der lytischen Fähigkeit (gegenüber der Kontrolle) hervor:

Eine Erbse Normalfaeces (O.) wird in 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung verrieben und 2 Tropfen Virus Typhusbouillon hinzugetan (R. 1).

Als Kontrolle dienen 10 ccm derselben physiologischen NaCl-Lösung, zu der ebenfalls 2 Tropfen Typhusbouillon gegeben werden (R. 2).

Beide Röhrchen werden sofort $^1/_2$ Stunde bei 60° gehalten und dann zentrifugiert.

	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Röhrchen 1 mit Faeces	±	θ	±	±
NaCl-Kontrolle (Röhrchen 2) .	$+_2$	$+_2$	$+_2$	$+_2$

In der überstehenden Flüssigkeit der Faecesaufschwemmung von Röhrchen 1 sind also nur noch Spuren von Virus nachweisbar — im deutlichen Gegensatz zu der NaCl-Kontrolle.

Während in dem letzten Versuch das Virus durch die Faeces nicht ganz adsorbiert wurde, gibt das nächste Protokoll wieder ein eindeutiges Resultat:

Zu einer Aufschwemmung von Faeces in 5 ccm Bouillon wird ein Tropfen Virus „Po.-Sh." gegeben (R. 1).

Als Kontrolle dienen 5 ccm derselben Bouillon mit einem Tropfen desselben Virus (R. 2).

	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Überstehende Flüssigkeit (R. 1)	0	0	0	0
Bouillonkontrolle (R. 2)	$+_2$	$+_1$	$+_1$	$+_2$

Im Gegensatz zu der Bouillonkontrolle läßt sich in der überstehenden Flüssigkeit der Faecesaufschwemmung kein Virus nachweisen.

Analoge Versuche mit Tierkohle — an Stelle der Faeces — zeigten auch eine geringe Adsorption des Virus an das Adsorbens, jedoch in minimalem Grade. Niemals wurde ein völliges Verschwinden des Virus beobachtet.

Therapeutische Versuche.

In einer größeren Reihe von *Heilversuchen*, die *d'Hérelle* mit seinen „Bacteriophagen" an Menschen und Tieren angestellt hat, soll sich seine therapeutische Wirksamkeit erwiesen haben.

So berichtet *d'Hérelle* z. B., daß unter 7 schweren Ruhrfällen in 5 Fällen 24 Stunden nach der Injektion von Virus die Faeces frei von Blut und Bacillen gewesen seien.

In 25 Hühnerhöfen mit 2100 Hühnern, die stark unter einer Typhusseuche litten, hörte nach der Impfung mit Virus die Erkrankung plötzlich auf. Bei der Büffelseuche (*Barbone*) gelangen ihm sowohl therapeutische wie prophylaktische Injektionen mit gutem Erfolge.

Von anderer Seite liegen unseres Wissens gleiche Erfahrungen nicht vor.

Wir selbst verfügen nur über solche bei Darmkranken.

Wie wir in einer früheren Arbeit bereits berichteten, wendete Prof. *Friedemann* das von uns hergestellte Virus an Ruhrkranken zu Heilzwecken an, nachdem wir uns in Selbstversuchen von der Unschädlichkeit dieser Virusarten überzeugt hatten. Aber weder bei der Verabreichung per os und per klysma, noch bei intramuskulärer Applikation ließen sich eindeutige Erfolge feststellen.



Daß sich dagegen im Tierversuch bei gleichzeitiger intraperitonealer Injektion von Lysin und Bakterien eine Wirkung des Lysins nachweisen läßt, haben wir *(Otto* und *Munter)* bereits an anderer Stelle mitgeteilt.

Serologische Untersuchungen.

Bordet und *Ciuca* gelang es zuerst, durch oft wiederholte Virusinjektion beim Kaninchen, ein antilytisches Serum zu erzeugen. Die antilytische Wirkung konnte durch das Serum auf andere Tiere übertragen werden. Nach *Bordet* und *Ciuca* soll das Virus durch das antilytische Serum völlig neutralisiert werden. *D'Hérelle* stellt eine vollkommene Neutralisierung in Abrede. Zusammen mit *Eliava* wiederholte er die Versuche von *Bordet* und *Ciuca* und fand vorübergehend allerdings eine völlige Aufhebung der bakteriolytischen Fähigkeit des Virus. Ließ man aber das Gemisch mehrere Tage im Brutschrank stehen, so trat die bakteriolytische Fähigkeit wieder vollkommen auf. Der Bacteriophage werde also durch das Antiserum wohl gehemmt, aber nicht in seiner Gesamtheit vernichtet. Gleichzeitig fanden *Bordet* und *Ciuca* im Antibacteriophagenserum eine hohe *antiimmunisierende* Wirkung. Wird einer Maus zusammen mit einer kleinen Dosis Antiserum eine 10fach untertödliche Dosis Shigatoxin injiziert, so geht sie ein, während die Kontrollen am Leben bleiben.

Außer der antilytischen und antiimmunisierenden Wirkung des Antiserums sind in ihm noch Agglutinine, Präcipitine und Komplement ablenkende Stoffe nachgewiesen worden, so daß es sich u. E. bei dem Virus, mit dem das Serum hergestellt wird, wegen dieser Polyvalenz des Serums im Sinne nicht um ein echtes Toxin von *Pick* handeln kann.

Nach *Maisin* wird ein für Coli und Shiga wirksamer Bacteriophage durch Antishigaphagenserum ebensogut neutralisiert wie durch Anticoliphagenserum.

Antibacteriophage Wirkung fand, wenn auch nur in schwacher Wirkung, *Bail* im Serum von Tieren, die nur mit Bacillen behandelt waren; so auch in den käuflichen Seris.

Die Herstellung antilytischer Sera nach dem Vorgange von *Bordet* und *Ciuca* ist uns mehrfach gelungen. Als Beispiel seien die folgenden Protokolle angeführt:

A. *Kaninchen* 3598, Gewicht 1500 g, erhält in 8tägigen Abständen je 2 ccm des „polyvalenten Virus K" i. v. Das benutzte Virus war in eine größere Anzahl Uhlenhuthröhrchen abgefüllt; diese waren zugeschmolzen und bei 8° aufbewahrt. Der Titer dieses Virus betrug für: Shiga $1 : 10^9$, Flexner $1 : 10^9$, Y $1 : 10^9$, Typhus $1 : 10^5$.

Erst nach der 11. Injektion waren in dem Serum des Tieres antilytische Körper nachweisbar. 8 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier entblutet. Das Serum wurde bei der Prüfung zunächst mit gleichen Teilen der zu prüfenden Virusarten vermischt und die Gemische auf ihre bactericide Wirksamkeit im Plattenverfahren geprüft.

Prüfung des Serums gegen das	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Kontrollen (Virus allein)			
					Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Virus K polyvalent .	$+_3$	$+_2$	$+_2$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ Po.-Shiga . . .	0	0	0	0	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_4$
„ Shiga	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ Typhusbouillon	0	0	±	±	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ 2 (Fl.-Y.) . . .	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Flexner 23 . .	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Y-Bouillon . .	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0



Antiserum 3598 zeigte also eine sehr merkwürdige Wirkungsweise. Während es nur geringe Hemmung gegen Virus K, mit dem es hergestellt wurde, besaß, wirkte es völlig neutralisierend auf mehrere andere Virusarten.

B. *Kaninchen* 3127, Gewicht 1750 g, erhält in 8tägigen Zwischenräumen je 2 ccm des Flexner-Y-Virus 2 i. v. Titer des Virus 2 betrug für Flexner 1 : 10^4, Y 1 : 10^6, Shiga: 0, Typhus: 0. Im ganzen waren 7 Injektionen gemacht. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier entblutet. Das Serum wurde ebenso wie das erste zu gleichen Teilen mit den zu prüfenden Virusarten vermischt und das Gemisch auf seine bactericide Wirkung im Plattenverfahren geprüft.

Prüfung des Serums gegen das	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Kontrolle (Virus allein)			
					Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Virus 2 (Fl.-Y) . . .	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Po.-Shig. . . .	$+_3$	$+_3$	$+_2$	$+_2$	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_4$
„ K (polyv.) . .	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ Y-Bouillon . .	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Typhusbouillon.	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$

Antiserum 3127 ist also spezifisch gegen Y.-Flexner-Lysine eingestellt. Es wirkte sowohl gegen das vom Menschen herstammende Virus 2 (Flexner-Y), sowie gegen das aus Y-Bacillen allein hergestellte Virus-Y-Bouillon, dessen Wirkungsbereich der gleiche war, wie der des Virus 2 (ebenfalls Flexner-Y). *Ein Hinweis, daß das aus Bacillenkulturen gewonnene Virus mit dem aus Faeces stammenden identisch ist.*

C. *Kaninchen* 204, Gewicht 1750 g, erhält in 8tägigen Zwischenräumen je 2 ccm Virus-„Y-Bouillon" i. v. Im ganzen wurden 15 Injektionen gemacht. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Tier entblutet. Das Serum wurde zu gleichen Teilen mit den zu prüfenden Virusarten vermischt und das Gemisch auf seine bactericide Wirkung im Plattenverfahren geprüft.

Prüfung des Serums gegen das	Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen	Kontrolle (Virus allein)			
					Shiga-bacillen	Flexner-bacillen	Y-bacillen	Typhus-bacillen
Virus 2	0	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Po.-Sh. . . .	+ (?)	0	0	0	$+_4$	$+_3$	$+_3$	$+_4$
„ Shigab.	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ 2 Typh. pol. . .	$+_{4/3}$	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ Fl. gesch. filt. .	0	$+_1$	0	0	0	$+_4$	$+_4$	0
„ Sh. $HgCl_2$ . . .	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_1$	$+_1$	$+_4$
„ K (polyv.) . .	$+_4$	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$
„ Ty. $HgCl_2$ . . .	$+_1$ (?)	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_3$ (?)	$+_3$ (?)	$+_4$
„ Typhusbouillon	0	0	0	0	$+_4$	$+_4$	$+_4$	$+_4$

Serum 204 war also nicht nur imstande, die Wirkung der dem Virus-Y-Bacillen analog wirkenden Vira aufzuheben, sondern es unterdrückte auch die Flexner-Y-Komponente der übrigen polyvalent wirkenden Virusarten.

Austitrierung des Antiserums 204 gegen Virus-Y-Bouillon, Verdünnung 1:100 (Titer des Y-Virus am gleichen Tage für Y-Bacillen 1 : 10^6). Fallende Dosen Antiserum, die mit Kochsalzlösung auf ein Volumen



von 0,5 ccm aufgefüllt werden, werden mit 0,5 ccm Virus-Y-Bouillon 1 : 100 verdünnt zusammengebracht und vor der Prüfung gegen Y-Bacillen (im Plattenverfahren) $^1/_2$ Stunde bei 37° gehalten.

0,5 ccm	Antiserum 204 + 0,5	Virus-Y-B. 1 : 100	0 Wirkung
0,25 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	0 „
0,125 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	0 „
0,0625 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$\pm - 0$
0,03125 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_2 - +_3$
0,015625 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_3$
0,0078125 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_3$
0,00390625 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_3 - +_4$
0,001953125 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_3 - +_4$
0,0009765625 ccm	„ 204 + 0,5	„ „	$+_4$
Kontrolle Virus Y.-B. 1 : 100			$+_4$
„ „ „	+ normales Kan.-Serum		$+_4$

Ergebnis: Das Antiserum wirkt in der Dosis 0,125 völlig und bis zu der Dosis von etwa 0,001 noch teilweise neutralisierend auf das Virus-Y-B.

Wenn aus obigen Versuchsprotokollen auch hervorgeht, daß die Antisera teils spezifisch, teils aber auch gegen heterologe Virusarten wirken können, so scheint sich nach unseren Erfahrungen ein solches Übergreifen der hemmenden Wirkung nur auf gleichsinnig oder nahe verwandte Virusarten bzw. bei polyvalent wirkenden Lysinen nur auf die homologe Komponente zu erstrecken, während es bei etwas ferner stehenden Virusarten ausbleiben dürfte. Es scheint, daß, je hochwertiger ein Antiserum ist, es auch desto leichter auf andere Virusarten übergreift. Außer *giftneutralisierenden* Eigenschaften besitzen die mit einem „bacteriophagen" Filtrat gewonnenen Sera, wie bereits erwähnt, noch *agglutinierende, präcipitierende und komplementbindende* Antikörper, wie dies besonders *Bordet* und *Ciuca* gezeigt haben. Wir möchten hier kurz ihre Resultate anführen, die sie bezüglich Lysin-Neutralisation, Präcipitation und Agglunitation erhalten haben.

Bordet und *Ciuca* untersuchten 3 verschieden gewonnene Sera: 1. ein Serum gegen einen normalen Colistamm, 2. Serum gegen eine resistent gewordene Kultur des Colistammes, 3. ein Serum gegen das Lysin.

Dabei erhielten sie folgende Resultate:

	Neutralisierte das Lysin	Präcipitierte das Lysin	Agglutinierte den Coli-Stamm normal	Agglutinierte den Coli-Stamm resist.
1. Das Serum gegen den norm. Colistamm	—	+	+	—
2. Das Serum gegen den resist. Colistamm	+	+	—	—
3. Das Antilysin	+	+	+	—

Auf unsere eigenen Versuche bezüglich Agglutination wollen wir hier nicht eingehen. Uns interessierten speziell die komplementbindenden Antikörper, und zwar aus folgendem Grunde.

Wenn die Anschauung zutrifft, daß der Bacteriophage weiter nichts ist, als eine kolloidale Lösung kleinster, bei der Auflösung oder Selbstverdauung der *lebenden* Bakterien entstehender Bakterienteilchen, so war zu erwarten, daß ein mit einem „Virus" (als einem Autolysat von bestimmter Beschaffenheit) hergestelltes Antiserum (Antilysin) auch *Bordetsche Antikörper* gegenüber diesem aus kleinsten Bakterienteilchen bestehenden Lysin enthielte. Es war ferner wahrscheinlich, daß sich zwischen diesem Serum und einem mit (abgetöteten) Vollbakterien derselben Bakterienart gewonnenen Antiserum (antibakterielles Serum) nachweisbare Differenzen ergeben würden.

Komplementbindungsversuche mit dem *d'Hérelle*schen Lysin und antilytischen Seris haben bereits *Bordet* und *Ciuca*, *d'Hérelle* sowie *Wollmann* und *Goldenberg* angestellt.

Bordet und *Ciuca* haben unseres Wissens über ihre Resultate noch nicht berichtet. Die Versuche *d'Hérelles*, die er in seiner Monographie mitteilt, sind wenig beweisend. Auf die Arbeit von *Wollmann* und *Goldenberg* wollen wir hier kurz eingehen.

Wollmann und *Goldenberg* haben die Komplementbindung zum Studium der Natur des Bacteriophagen herangezogen. Auf Grund ihrer Versuche diskutieren sie die Möglichkeit, daß der Bacteriophage spezifisch antigene Eigenschaften habe. Dies scheint uns allerdings aus ihren Versuchen, zumal der Text ihrer Arbeiten störende Druckfehler enthält, nicht so ohne weiteres hervorzugehen; vor allem fehlen wichtige Kontrollen z. B. über die Eigenhemmung der abgesättigten Sera. Diese sind aber dringend nötig, nachdem wir oben gesehen haben, daß durch das Digerieren mit Bacillenextrakten das Auftreten von Lysin (und damit von Antigen) in den Bacillen begünstigt wird.

Wir sind im übrigen in ähnlicher Weise vorgegangen wie *Wollmann* und *Goldenberg*, benutzten indessen zu unseren Versuchen nicht Shiga- sondern Flexnerstämme und mit ihnen erzeugte Extrakte und Lysine (Bacteriophagen).

Zunächst prüften wir die Eigenhemmung der bei unseren Versuchen benutzten Antigene und Antikörper. Dabei zeigte sich, daß den hochwirksamen Bacteriophagen im allgemeinen eine geringe, den Extrakten (Autolysaten) eine stärkere Eigenhemmung zukommt (Protokoll I).

Protokoll I.

Dosis	Eigenhemmende Wirkung verschiedener Bacteriophagen					Eigenhemmende Wirkung verschiedener Autolysate aus Bact.			
						lebend		abgetötet	
	V_2	V_{23}	Ty. B.	Y 66	Fl. 19	Flex.	Y	Flex.	Y
0,5	+	+	++	+	+	++++	++++	++++	++++
0,4	+	±	±	±	+	++++	++++	++++	++++
0,3	±	—	—	—	±	++++	++++	+++	+++
0,2	—	—	—	—	—	+++	+++	+	+
0,1	—	—	—	—	—	++	+	—	±
0,05	—	—	—	—	—	±	—	—	—
0,025	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,0125	—	—	—	—	—	—	—	—	—



Nach diesem Versuchsausfall wählten wir als Titer bei den später erwähnten Versuchen:

für Bacteriophage V_2 0,1
,, Autolysat aus lebenden Flexnerbac. . . 0,0125
,, Autolysat aus abgetöteten Flexnerbac. . 0,05

Wir haben sodann die beiden oben erwähnten Antisera in ihrer Bindungskraft gegenüber folgenden vier Antigenen geprüft:

1. gegenüber einem Flexnerlysin,
2. ,, einer Emulsion von Flexnerbacillen,
3. ,, einem Schüttelextrakt aus lebenden Flexnerbacillen,
4. ,, einem Schüttelextrakt aus abgetöteten Flexnerbacillen.

Als *Bacteriophage* (Lysin) benutzten wir unser Virus V_2. Das Virus ist aus dem Stuhle eines Ruhrkranken gewonnen und mit Flexnerbacillen seit längerer Zeit fortgezüchtet (vgl. S. 125).

Die *Bakterienemulsion* war in der Weise hergestellt, daß eine Kolleschale einer 24stündigen Flexnerkultur mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und durch gehärtete Papierfilter filtriert wurde. Die Bakterien wurden sodann 1 Stunde auf 60° erhitzt. (In einigen Versuchsreihen sind auch lebende Bakterien, die in gleicher Weise zu einer Emulsion verarbeitet waren, zu den Bindungsversuchen benutzt worden.)

Das *Autolysat aus lebenden Bakterien* wurde gewonnen, indem der Bakterienrasen einer Kolleschale nach 24stündiger Bebrütung mit 5,0 ccm Aqua dest. abgeschwemmt und 48 Stunden geschüttelt wurde. Dann wurde die Flüssigkeit scharf zentrifugiert und das Zentrifugenklar im Verhältnis 1 : 10 mit 5 proz. Phenollösung versetzt.

Das *Autolysat aus abgetöteten Bakterien* wurde durch Abschwemmen mit Kochsalzlösung hergestellt. Nachdem die mit dieser Lösung abgeschwemmten Bakterien durch 1stündiges Erhitzen auf 60° abgetötet worden waren, wurde die Emulsion zentrifugiert, das Zentrifugat in 5,0 Aqua dest. aufgenommen, 48 Stunden geschüttelt, von neuem zentrifugiert und wie oben phenolisiert.

Bei den Komplementbindungsversuchen mit diesen vier Antigenen zeigte sich nun, *daß das antilytische Serum* (unter Berücksichtigung der Eigenhemmung) gut mit dem Lysin, weniger stark mit der Bakterienemulsion, verschieden stark mit den Autolysaten Komplement band (und zwar war die Reaktion bei den letzteren *stärker* bei Verwendung des Autolysates aus *lebenden* Keimen).

Auch das *antibakterielle Serum* gab mit dem Lysin Komplementbindung, und zwar kaum schwächer wie mit der Bacillenemulsion und den Autolysaten. Im Gegensatz zu dem antilytischen Serum war aber die Komplementbindung mit dem Autolysat aus lebenden Bakterien meist nicht stärker, eher schwächer (Protokoll II, s. S. 156).

Es bestand also ein markanter Unterschied in der Komplementbindungsfähigkeit beider Sera, der sich besonders darin zeigte, daß das

antilytische Serum (im Gegensatz zu dem antibakteriellen) 1. den Bacteriophagen stärker als die Bacillenemulsion, und 2. das Autolysat aus *lebenden* besser als das aus *abgetöteten* Keimen band. Hieraus darf man wohl auf eine *gewisse Receptorengemeinschaft des Bacteriophagen und des Autolysates aus lebenden Keimen schließen*.

Protokoll II.

Verdünnung des Serums	Antibakterielles Serum				Kontrolle	Antilytisches Serum				Kontrolle
	Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Autolysat aus Flexnerbacillen lebend	Autolysat aus Flexnerbacillen tot		Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Autolysat aus Flexnerbacillen lebend	Autolysat aus Flexnerbacillen tot	
1:10	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++	++++	+++
1:20	++++	+++	++++	++++	±	++++	+++	++++	++++	+
1:40	++++	++	++++	++++	–	+++	++	++++	+++	–
1:80	+++	++	++++	++++	–	++	±	++++	++	–
1:160	+	±	+++	++++	–	+	–	+++	±	–
1:320	+	–	+	+++	–	±		+	–	–
1:640	–		–	+	–	–	–	±	–	–
1:1280	–	–	–	–	–		–	–	–	–

In einer anderen Versuchsreihe haben wir sodann die komplementbindende Kraft *beider Sera* geprüft, nachdem wir sie dreimal mit Flexnerbacillen *abgesättigt* hatten. (Bei jeder Absättigung wurden 5,0 ccm Serumverdünnung 1 : 10 mit einer Öse frischer Kultur 2 Stunden bei 37° digeriert.)

Nachdem die fast regelmäßig verstärkte Eigenhemmung der abgesättigten Sera genau festgestellt war (Protokoll III), zeigte sich, daß durch die Absättigung die *Bindungskraft des Antilysins nur gegenüber der Bakterien-Emulsion deutlich herabgesetzt war. Dagegen verlor das antibakterielle Serum gegen alle Antigene fast gleich stark an Bindungskraft (Protokoll IV).* Ähnliche Resultate ergaben sich bei Wiederholungen des Versuches.

Protokoll III.

Eigenhemmende Wirkung der Sera vor (I) und nach (II) Absättigung mit Bakterien.

Dosis	Antibakterielles Serum		Antilytisches Serum	
	I	II	I	II
0,25	++++	++++	++++	++++
0,2	++++	++++	++++	++++
0,15	++++	++++	++++	++++
0,1	+++	++++	+++	+++
0,05	++	+++	+	+++
0,025	+	±	–	++
0,0125	–	–	–	–

Protokoll IV.

Bindungsversuch mit beiden Seren vor (I) und nach (II) Absättigung mit Bakterien.

Verdünnung	Antibakterielles Serum						Antilytisches Serum					
	I			II			I			II		
	Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Auto-lysat lebend	Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Auto-lysat lebend	Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Auto-lysat lebend	Bact.-phage V_2	Flexner-bacill.-emuls.	Auto-lysat lebend
1:10	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +
1:20	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ +	+ + + +	+ + + +	+ + +	+ + + +	+ + + +	+	+ + + +
1:40	+ + +	+ + +	+ + + +	+ +	+	+ + + +	+ + +	+ +	+ + + +	+ + +	+	+ + + +
1:80	+ +	+ +	+ + + +	+	±	+ + +	+ +	+	+ + + +	+ +	–	+ + + +
1:160	+	±	+ + +	+	–	+ +	+	–	+ +	+ +		+ + +
1:320	+	–	+		–	+	+		+	±	–	+
1:640	–	–					–	–	+	–		+
1:1280			–				–	–			–	–

Bezüglich der Titer siehe Protokolle I und III.

Aus diesen Versuchen schließen wir, daß in dem antilytischen Serum zwar eine gewisse mit den antibakteriellen Seris gemeinsame Antikörperquote vorhanden ist, daß es aber außerdem eine spezifische Quote besitzt, die in erster Linie mit dem Lysin reagiert und von den Bakterien wenig gebunden wird.

Weitere Versuche bezweckten die Feststellung, inwieweit das mit Bakterien abgesättigte Antilysin in seiner neutralisierenden Wirkung beeinflußt wird. *Dabei zeigte sich, daß die Absättigung die Neutralisationskraft des Antilysins nicht aufhebt (Protokoll V).*

Protokoll V.

Prüfung des antilytischen Serums V_2 gegen den Bacteriophagen V_2 vor (I) und nach (II) der Absättigung.

Bacteriophagenverdünnung	I	II	Bacteriophagen-kontrolle
1 : 0	$+_3$	$+_3$	$+_1$
1 : 100	$+_1$	$+_2$	$+_1$
1 : 10 000	0	0	$+_3$
1 : 1 Million	0	0	$+_2$
1 : 100 Millionen . . .	0	0	$+_1$
1 : 10 Milliarden . . .	0	0	ca. 20 Löcher

Zusammenfassung.

1. Die Gewinnung des *d'Hérelle*schen „Bacteriophagen" gelang leicht aus Stuhlfiltraten nach der Angabe von *d'Hérelle*.

2. Bei der Prüfung des „Virus" erwies sich das „Plattenverfahren" der Bouillonröhrchenmethode überlegen.

3. Es wird eine neue Form der Schädigung des Bakterienwachstums durch das Virus mitgeteilt. Sie äußert sich darin, daß unter dem Ein-



fluß des Virus auf den Agarplatten keine völlige Aufhebung, sondern nur eine charakteristische Hemmung des Wachstums eintritt (hauchartiger Bakterienrasen bei Paratyphus B-Bacillen, Staphylokokken).

4. Die verschiedene (spezifische bzw. polyvalente) Wirkungsweise der Lysine wird an einigen Beispielen gezeigt.

5. Die Fortführung des Lysins gelingt bei verschiedenen Temperaturen, aber nur mit lebenden, nicht mit abgetöteten Keimen.

6. Auch bei Nicht-Darmkranken fanden wir gelegentlich in den Faeces Ruhrbacteriophagen, ebenso bei gesunden Personen.

7. Nach dem Verfahren von *Bordet* und *Ciuca* gelang uns die Gewinnung eines Lysins mit Colibacillen nicht, wohl aber mit Ruhr- und anderen Bakterien.

8. Aus den verschiedensten Bakterienkulturen (Bouillonkulturen) ließen sich in vitro „Bakteriophagen" gewinnen, z. B. mit Typhus-, Paratyphus B-, Y-, Flexner-, Shiga-Kruse-, Colibacillen sowie mit Staphylokokken; am leichtesten mit Ruhr- und Typhusbacillen.

9. Für die Gewinnung des Lysins erwies sich der Vorgang der Filtration durch Bakterienfilter als ein Moment von ausschlaggebender Bedeutung.

10. Aus unseren Versuchen ziehen wir den Schluß, daß das wirksame Prinzip beim *d'Hérelle*schen Phänomen aus den Bakterien selbst stammt (fermentative Wirkung kleinster Teilchen, die beim Zerfall *lebender* Bakterien entstehen).

11. Außer der Filtration begünstigten die Lysinbildung:

a) Zusatz von Immunserum,
b) Zusatz von Bakterienautolysat,
c) Zusatz von inaktiviertem Bacteriophagen und
d) Zusatz von schwacher Sublimatlösung.

12. Die „Bacteriophagen" sind in der Regel spezifisch. Flexner- und Y-Lysine wirken gleichsinnig auf Flexner- und Y-Kulturen, Shigalysine dagegen meist außer auf Shiga- noch auf Typhusbacillen; ebenso Typhuslysine neben Typhus- auch auf Shigabacillen.

Außerdem fanden wir polyvalentwirkende Bacteriophagen.

13. Eine Umzüchtung des Virus zur Wirksamkeit gegen andere Bakterien gelang nicht immer. Wir erhielten dabei wechselnde Resultate.

14. Das Virus hielt sich lange Zeit unverändert wirksam. Die Aufbewahrung geschah bei + 8°, + 22° und + 37 C°.

15. Einzelne Bakterienkulturen wurden aus unbekannter Ursache spontan resistent gegen das Virus.

16. Das Phänomen des Resistentwerdens und das Auftreten von „Flatterformen" läßt sich *experimentell* durch Behandlung der Kulturen mit Lysin leicht demonstrieren.



17. Die Fortführung des wirksamen Prinzips gelingt in 0,1 proz., aber nicht in 0,5 proz. Carbolsäurebouillon, welche die Bakterien abtötet.

18. Durch Erhitzung werden die einzelnen Bacteriophagen verschieden stark geschädigt.

19. Auch das einzelne Virus wird durch die Erhitzung in seiner Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Bakterien ganz verschieden beeinträchtigt und gibt in den einzelnen Versuchen wechselnde Resultate.

20. Die „resistenten" Keime erwiesen sich nicht immer als „Virusträger". Gegen ein bestimmtes Virus resistente Bakterien sind nicht immer gegen alle Bacteriophagen resistent.

21. Das lytische Virus läßt sich in dem Blut bald nachweisen, gleichviel ob es experimentell im Körper, z. B. durch intraperitoneale Injektion von Bakterien erst erzeugt oder dem betreffenden Individuum in wirksamer Form subcutan oder sonstwie injiziert wird.

22. In normalen Faeces zeigte das Virus nur eine unerwartet geringe (das Auskeimen der Typhusbacillen hemmende) Wirkung. Die ihm von *d'Hérelle* zugeschriebene Bedeutung für das Verschwinden der Bakterien im Stuhl bedarf noch weiterer Aufklärung.

23. Therapeutische Versuche am Menschen ergaben keine eindeutigen Resultate. Im Tierversuch war das Virus bei bestimmter Versuchsanordnung wirksam.

24. Die Herstellung antilytisch wirkender Sera gelang uns nach dem Vorgange von *Bordet* und *Ciuca* leicht.

25. Die Antisera wirkten spezifisch gegen das homologe Lysin, gleichgültig, ob es von Darmkranken oder aus Bakterien allein gewonnen war. Einige Sera wirkten zwar (polyvalent) auch gegen unspezifische Virusarten, aber dann nur auf die homologe Quote dieser polyvalenten Bacteriophagen. Ein Teil der Antisera erwies sich gegen das homologe Lysin wenig wirksam, dagegen stark wirksam gegen heterologe Lysine.

26. Hochwertige Antisera greifen anscheinend, ebenso wie hochwertige Lysine, auf heterologe Virusart bzw. Bakterien über.

27. Außer lysinneutralisierenden Eigenschaften besitzen die Antilysine noch andere Antikörper (Agglutinine, Präcipitine, *Bordet*sche Antikörper).

28. Das *antilytische* Serum gibt im Bindungsversuch mit dem Lysin und mit Autolysaten aus lebenden Bakterien gute Bindung, während ein *antibakterielles* Serum zwar auch Bindung gibt, aber stärker mit Autolysat aus abgetöteten Bakterien.

29. Es besteht eine gewisse Receptorengemeinschaft des Bacteriophagen mit dem Autolysat aus lebenden Bakterien.

30. *Sättigt* man *antilytische* Sera mit Bakterien ab, so wird ihre Bindungskraft im Komplementbindungsversuch nur gegenüber diesen Bak-



terien deutlich herabgesetzt, während das *antibakterielle* Serum an Bindungskraft gegenüber allen geprüften Antigenen (Lysin, Autolysat, Bakterienemulsion) verlor.

31. Das *antilytische Serum* hat also zwar eine gewisse mit dem antibakteriellen gemeinsame Quote, es *besitzt aber außerdem eine spezifische Komponente,* die in erster Linie mit dem Lysin reagiert, und die von den Bakterien wenig gebunden wird.

32. Durch die Absättigung mit Bakterien wird das Lysinneutralisierungsvermögen des antilytischen Serums nicht aufgehoben.

Literaturverzeichnis.

Vielfach standen uns nicht die Originalarbeiten, sondern nur die Referate im Zentralbl. f. Bakteriol. und im Zentralbl. f. d. ges. Physiol. u. exp. Pharmakol. (*Oppenheimer* und *Rona*) zur Verfügung.

D'Hérelle, Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1917 bis 1921. Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1918 bis 1921. Presse méd. 1921, S. 462; Le bactériophage et son rôle dans l'immunité. Monographie Paris 1921. — *D'Hérelle* und *Eliava,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920. S. 719. — *D'Hérelle* und *Pozerski,* ebd. 1921, Nr. 35.— *Bablet,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1322. — *Bail,* Wien. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 20, 37, 46. — *Bail* und *Watanabe,* Wien. klin. Wochenschr. Nr. 8, 1922. — *Bordet* und *Ciuca,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1293, 1297; 1921, S. 276, 278, 280, 745, 747, 749. — *Bruynoghe,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 20, 258. — *Bruynoghe* und *Maisin,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 847. — *Conradi* und *Kurpjuweit,* Münch. med. Wochenschr. 1905, S. 1761, 2164, 2228. — *Debré* und *Haguenau,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1348, 1368. — *Dumas,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1314. — *Ehrenberg,* Die Naturwissenschaften 1922, Heft 1, S. 20. — *Eliava* und *Pozerski,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 139, 718. — *Eijkmann,* Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Orig. Abt. I, **37**, Heft 3, S. 436. — *Friedemann,* Die Naturwissenschaften 1921, Heft 50. — *Gildemeister,* Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 46. — *Gratia,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 25, 275, 750. Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. 18, 1921. — *Gratia* und *Jaumain,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 880, 882. — *Kabéshima,* Cpt. rend. sciences 1919, S. 1061; 1920, S. 71; Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 219, 471. — *Kruse,* Allg. Mikrobiologie, Leipzig 1910. — *Kuttner,* Proc. of the soc. f. exp. biol. a. med. 18, 158. — *Maisin,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921, S. 467, 468, 755. — *Metalnikow,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 667. — *Otto, R.* und *H. Munter,* Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Heft 52. — *Otto, R.* und *W. F. Winkler,* Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 13. — *Poorter* und *Maisin,* Arch. internat. de pharmaco-dyn. et de thérap. 1921, S. 473. — *Rimpau,* Münch. med. Wochenschr. 1921, Heft 51. — *Salimbini,* Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 1920, S. 1241; Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1548. — *Wollmann,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1920, S. 1478. 1921, S. 3, 7. — *Wollmann* und *Goldenberg,* Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1921. S. 272. — *Watanabe,* Wien. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 43, S. 522; 1922, S. 53.

(Aus dem Hygienischen Institut der Technischen Hochschule in Delft. [Direktor: Prof. Dr. *J. G. Sleeswijk*].)

Gewerbehygienische Öluntersuchungen.

Von
Chem.-Ing. **J. E. Heesterman,**
Assistent am Institut.

Man hat öfters gesehen, daß in Fabriken und Gewerben, wo Arbeiter regelmäßig mit Öl, sei es fettes (pflanzliches oder tierisches) oder mineralisches Öl, in Berührung kommen, diese Berührung die Ursache von Hauterkrankungen sein kann, welche als Gewerbekrankheiten aufzufassen sind.

Wir können hier z. B. die folgenden Gewerbe nennen: Die Gewinnung, Verarbeitung (Destillation) und Reinigung von pflanzlichem oder tierischem Öl (Leinöl-, Salatöl-, Kerzen- und Seifefabriken). Ferner die Maschinenfabriken, wo besonders die Arbeiter, welche mit Drehen und Bohren beschäftigt sind, mit dem Öl in Berührung kommen, infolge des Spritzens der geölten Werkzeuge.

Die Erscheinungen, welche bei diesen Erkrankungen auftreten, sind Ausschlag, Comedonen, Ausfallen der Haare, Pusteln, Warzen. In schweren Fällen kann Krebs entstehen. Das Paraffin, das in den höheren Fraktionen der Destillation des rohen Erdöls vorkommt, wird hieraus durch Abkühlen und Filtrieren beseitigt. Das Paraffin ist unschädlich, die reizende Wirkung geht aus von dem übrigbleibenden unreinen Öl. Gerade die Arbeiter, die an den Filtrierpressen arbeiten, sind häufig solchen Affektionen ausgesetzt.

Die Erscheinungen sind beschränkt auf die Teile des Körpers, die mit dem Öl in Berührung kommen. Es können auch Körperstellen, die mit Kleidern bedeckt sind, erkranken, wenn die Kleider mit Öl durchtränkt sind.

In den letzten Kriegsjahren sind diese Erscheinungen in verschiedenen Ländern sehr in den Vordergrund getreten. Wahrscheinlich ist dies der weniger guten Reinigung des Öls zuzuschreiben, infolge des Mangels an Schwefelsäure. Weiter scheint auch die geringere Körperreinlichkeit infolge des Seifenmangels eine Rolle gespielt zu haben. Die Affektion fängt meistens an mit Entzündung der Haarfollikel und Talgdrüsen, unter Bildung von Mitessern (Comedonen). Öfters geht es nicht weiter und es wird dem keine Bedeutung beigelegt.



Ich möchte hier hinweisen auf die wichtigen Studien, die von *Uhlmann* (*Wiener Arbeiten aus dem Gebiete der Sozialen Medizin*, Heft 2) hierüber gemacht wurden. Dieser Untersucher behandelt jedoch nicht die chemischen Ursachen der reizenden Wirkung. *Weichardt* und *Apitzsch* besprechen gerade diese Seite der Sache ausführlich (*Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.* 85, 335). Sie kommen zu dem Resultat, daß die ungesättigten Verbindungen des Öls die Ursache der reizenden Wirkung sind, und gründen diese Meinungen auf die folgenden Tatsachen:

1. Durch verschiedene Oxydationsmethoden (Kaliumpermanganat und Salzsäure, Chlor, Chlorkalk) wird die reizende Wirkung aufgehoben.

2. Bei Behandeln des Öls mit starker Schwefelsäure wird Schwefeldioxyd entwickelt (SO_2). Nachdem das Öl mit Wasser nachgewaschen ist, sind die reizenden Eigenschaften verschwunden.

Ich kann, auf Grund der von mir angestellten Versuche, die Meinung von *Weichardt* und *Apitzsch* im allgemeinen nicht teilen. Wohl ist es möglich, daß die reizenden Stoffe ungesättigte Verbindungen sind, aber dann geht die reizende Wirkung nicht aus von der Kohlenstoffdoppelbindung als solcher.

Die Ansicht, daß man aus der Entwicklung von Schwefeldioxyddämpfen bei der Behandlung mit Schwefelsäure auf ungesättigte Verbindungen schließen darf, ist falsch. Im allgemeinen werden ungesättigte Verbindungen von Schwefelsäure gerade nicht oxydiert, sondern sulfoniert und kondensiert zu Harzen u. dgl.

Paul und *Roth* (*Ber. d. Dtsch. Chem. Ges.* 42, 1541) geben an, daß sie die giftigen Eigenschaften vom Crotonöl durch Hydrieren aufheben konnten. Diese giftigen Eigenschaften waren aber von rein toxischem Charakter und nicht der ungesättigten Verbindung als solcher zuzuschreiben, denn weit mehr ungesättigte Öle sind viel weniger wirksam (z. B. Leinöl, Rüböl). Die Doppelbindung kann also wohl die giftigen Eigenschaften mancher Stoffe verstärken, bedingt aber diese Eigenschaften selbst nicht.

Bei meinen Versuchen verfuhr ich folgendermaßen: Eine Probe des Öls wurde bezüglich seiner reizenden Eigenschaften dadurch untersucht, daß bei einem Kaninchen (Albino) eine Stelle der Haut rasiert und dann diese rasierte Stelle während 1—2 Wochen täglich mit Öl eingerieben wurde. Auf diese Weise kann man an einem Kaninchen mehrere Proben zugleich ausführen und dann vergleichen. Man ist dadurch unabhängig von Zufälligkeiten des individuellen Tiers. Meistens wurde so die ursprüngliche Probe verglichen mit einer anderen Probe desselben Öls, nachdem dies irgendwie behandelt worden war. Diese Versuchsanordnung ist insofern besser wie das Aufstreichen des Öls auf die innere Seite des Ohres, als die Tiere die Ohren meistens durch



Lecken reinigen. Bei den rasierten Hautstellen ist dies weniger der Fall. Kommt es doch noch vor, dann kann man diesem Übel durch einen hölzernen Kragen vorbeugen.

Ich experimentierte mit folgenden Ölarten, von denen ich hier die chemische Analyse angebe:

Öl Nr.	Bezeichnung	Freie organ. Säure %	Jodzahl.	Fettes Öl %	Asphalt %	Dichte	Brechungsindex
I.	Schmieröl	0,02 SO_3	17,8	0,00	0,00	0,893	1,5031
I a)	Schmieröl destilliert . . .	0,039 „	25,9	0,00	0,00	—	—
I b)	Schmieröl dest. im Vakuum	0,033 „	14,2	0,00	0,00	—	—
II.	Bohröl	0,15 „	88,45	100,0	—	0,935	—
III.	Leinöl	0,00 „	182,4	100,0	—		—
IV.	Revolverbanköl[1])	0,075 „	21,6	22,0	0,86	0,909	1,5021
V.	Revolverbanköl	0,434 „	53,0	24,0	0,00	0,844	—
VI.	Heizöl	0,040 „	31,0	0,00	10,6	—	—
VI a)	Dasselbe ohne Asphalt. .	—	26,2	0,00	0,00	—	—
VI b)	10 proz. Lösung von Asphalt aus Heizöl in Paraffinum liquid.	—	7,3	—	10,0	—	—

Die Art und Weise, den Gehalt an freier Fettsäure durch Angabe des Gewichts der äquivalenten Menge Schwefeltrioxyd auszudrücken, ist in der Ölanalyse üblich. Mineralische Säure oder Alkali war in keiner der Ölproben nachzuweisen.

Die Jodzahl ist ein Maß für den Gehalt des Öls an ungesättigten Verbindungen; es ist nämlich die Menge Halogen, ausgedrückt in Grammen Jod, die von 100 g Öl aufgenommen wird.

Die verschiedenen Öle verhielten sich im Tierexperiment verschieden. Öl I war eines der stärkst wirkenden. Mit diesem Öl wurden die meisten Versuche gemacht.

Den Einfluß der verschiedenen Bestandteile der Öle untersuchte ich folgendermaßen:

Ungesättigte Verbindungen.

Von der Probe I wurden von 100 ccm 50 destilliert (Siedepunkt 320—380°). Das Destillat (Probe I a) ist hellgelb, im Gegensatz zu der dunkeln Farbe des ursprünglichen Öls. Der Geruch ist viel unangenehmer geworden. Die Jodzahl ist viel höher.

Als ich dieselbe Fraktion im Vakuum (20 mm Quecksilberdruck) destillierte, waren die Eigenschaften des Öls ungefähr dieselben als die des obigen Destillats. Der einzige Unterschied ist der, daß die Jodzahl viel niedriger ist (14,2). Die Erklärung hierfür wäre folgende: Die ungesättigten Verbindungen sieden bei höherer Temperatur als die

[1]) Die Probe IV brachte neben freier organischer Säure noch 0,008% organische Sulfonsäure (ausgedrückt in % SO_3).



übereinstimmenden gesättigten Verbindungen. Dadurch ist die erste Fraktion weniger ungesättigt als das ursprüngliche Öl.

Destilliert man aber ohne Vakuum, so trennt das Öl Wasserstoff ab und wird zum Teil ungesättigt, die Jodzahl steigt.

Bei dem Tierexperiment zeigten die beiden destillierten Öle gleich starke Wirkung, die stärker war als die des ursprünglichen Öls. Es stellte sich heraus, daß die reizende Wirkung durchaus nicht mit dem Gehalt an ungesättigten Verbindungen parallel geht, so daß diese nicht die Ursache der Wirkung sein können. (Wir hatten hier genau dasselbe Öl, nur die Ungesättigtheit war verschieden.) Dieses Resultat wurde bestätigt durch Versuche mit Ölen von stark ungesättigtem Charakter (Ölproben II und III, Jodzahl 88,5 und 182,4). Ihre Wirkung auf die Haut war ungefähr die gleiche wie bei Öl I.

Wenn die ungesättigten Verbindungen die Ursache der reizenden Wirkung wären, so müßte die Wirkung hier der Jodzahl etwa proportional, also 5- bzw. 11 mal so stark sein als bei Öl I. Dies ist durchaus nicht der Fall. Es ist zwar nicht gleichgültig, ob Öl II und III fette Öle sind und Öl I Mineralöl, aber wenn die Ungesättigtheit an sich die Wirkung verursacht, so müßte der Einfluß auf die Haut (der Jodzahl gemäß) ganz verschieden ausfallen und nicht, wie es sich gezeigt hat, ungefähr gleich sein.

Gehalt an freier Säure.

Der Gehalt an freier Säure ist ziemlich klein. Doch wäre es möglich, daß die Ursache der reizenden Wirkung hier zu suchen ist. Um dies zu entscheiden, machte ich vergleichende Versuche mit entsäuerten und nicht entsäuerten Ölen. Das Entsäuern geschah durch einstündiges Schütteln des Öls mit Natronlauge im Überschuß, dann mehrmaliges Auswaschen mit Wasser. In dieser Weise behandelte ich Öl Ib (0,033% freie Säure). Bei dem Tierversuch erwiesen sich die reizenden Eigenschaften als *nicht* verschieden, so daß also auch in dem Säuregehalt nicht die Ursache zu suchen ist.

Einen anderen Versuch machte ich mit Öl IV (22% fettes Öl), das weiter noch organische Sulfonsäure enthält. Die Sulfonsäure wird mit Wasser ausgewaschen, dann bleibt ein Gehalt von 0,11% SO_3 an freier organischer Säure. Von dem Öl IVb wurden für den Tierversuch zwei Proben benutzt, eine entsäuerte und eine nicht-entsäuerte. Es war ein geringer Unterschied in der Wirkung zu sehen: das nicht-entsäuerte Öl war etwas stärker wirksam. Der Gehalt an freier organischer Säure hat hier also einen geringen Einfluß, ist aber nicht die Hauptursache. Bei einer dritten Ölprobe (Öl V, 24% fettes Öl, Jodzahl 53,0, freie Säure 0,43%) war kein Unterschied zu sehen zwischen entsäuertem und nichtentsäuertem Öl.



Der Gehalt an freier Säure kann also wohl einigen Einfluß haben, ist aber nicht die Hauptursache, wenigstens bei dem gewöhnlichen Gehalt an freier organischer Säure.

Eine andere Möglichkeit wäre die, daß die reizenden Eigenschaften bei den höheren Kohlenwasserstoffen selbst, dem Hauptbestandteil des Mineralöls, zu suchen sind. Dagegen sprechen die Versuche, welche ich unternahm mit Paraffinum liquidum. Dies ist ein sehr reines Präparat von höheren Kohlenwasserstoffen, das sich bei dem Tierversuch unschädlich zeigte. Die höheren Kohlenwasserstoffe selbst sind also in dieser Beziehung unwirksam. Auch andere Versuche führten zu demselben Resultat. — Ich reinigte das Öl Ib durch wiederholtes Behandeln mit starker Schwefelsäure während mehrerer Stunden und nachträgliches Waschen im Scheidetrichter. Bei dieser Behandlung werden alle Stoffe, welche nicht zu den gesättigten Kohlenwasserstoffen gehören, größtenteils beseitigt. Hierbei wurde die Jodzahl auf 1,36 herabgesetzt, der unangenehme Geruch verschwand und die reizenden Eigenschaften auch. Dem übrigbleibenden Hauptbestandteil des Öls, den gesättigten Kohlenwasserstoffen, sind also keine reizenden Eigenschaften zuzuschreiben.

Um den Einfluß des Asphaltgehaltes zu bestimmen, nahm ich sehr asphaltreiches Öl (Heizöl Nr. VI). Heizöl ist das Residuum der Erdöldestillation und enthält alle hochmolekularen, kondensierten harz- und asphaltartigen Stoffe des Öls. Asphalt nennt man die benzinunlöslichen Bestandteile eines Mineralöls. Das Heizöl enthielt 10,6% Asphalt. In einer Probe des Öls wurde der Asphalt mit Benzin präcipitiert und abfiltriert. Durch Verdampfen des Benzins bekam ich asphaltfreies Heizöl (Ölprobe VIa). Von dem abfiltrierten Asphalt machte ich eine 10proz. Lösung in Paraffinum liquidum (Ölprobe VIb). Das ursprüngliche Öl war sehr viscös, das asphaltfreie weniger. Diese drei Präparate wurden am Tier versucht. Es stellte sich heraus, daß die 10proz. Asphaltlösung unschädlich war, während das asphaltfreie und das gewöhnliche Heizöl die Haut reizten, das gewöhnliche etwas stärker als das asphaltfreie.

Dieser Unterschied ist sehr gut aus dem Unterschied in der Viscosität der Ölproben zu erklären, da das viscöse Öl länger mit der Haut in Berührung bleibt.

Weiter war es vielleicht möglich, daß im Öl anwesende basische Verbindungen (Amine, Pyridinbasen usw.) den reizenden Einfluß ausübten. Ich habe das Öl I gewaschen mit verdünnter Salzsäure, die Säure neutralisierte ich und das neutrale wässerige Extrakt extrahierte ich weiter mit Äther. Der Äther verdampfte, ohne irgendeinen Rest zurückzulassen, es sind also *keine* basischen Verbindungen vorhanden (oder nur Spuren). Das Öl, das mit verdünnter Salzsäure extrahiert



war, verhielt sich im Tierversuch genau so wie das nichtextrahierte Öl. Die Ursache der reizenden Wirkung ist also auch hier in den basischen Verbindungen nicht zu suchen.

Durch Waschen des Öls mit Alkohol waren die reizenden Eigenschaften ebensowenig zu beseitigen, was wieder im Tierversuch sich herausstellte.

Resümiert finden wir, daß die reizenden Eigenschaften des Öls beigemischten Stoffen zuzuschreiben sind, die

1. durch Schwefelsäure gelöst und entfernt werden,
2. nicht basischer Natur sind,
3. nicht saurer Natur sind,
4. zu den mehr flüchtigen Bestandteilen des Öls gehören,
5. keine Asphaltstoffe sind.

Die reizenden Eigenschaften sind nicht den ungesättigten Verbindungen als solchen zuzuschreiben.

Freie organische Säure kann einen geringen Einfluß haben, doch sind die Säuregehalte, wie sie in den üblichen Ölen meist vorkommen, nicht sehr wichtig in dieser Hinsicht.

Reinigung der Maschinenöle mit Schwefelsäure und Natronlauge ist also für die Praxis das beste Mittel, schädlichen Einwirkungen auf die Haut vorzubeugen.



(Aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Amsterdam.
[Direktor: Prof. Dr. *R. H. Saltet*].)

Über die Beweglichkeit der Anaerobenbakterien und ein neues Verfahren, diese einfach darzustellen.

Von

M. van Riemsdyk,
Assistentin am Institut.

Mit 2 Textabbildungen.

Der „Hängende Tropfen" des anaeroben Bacillus bietet sehr viele Eigentümlichkeiten. Was zuerst auffällt, sind zwei Dinge: 1. Die Art der Bewegung des Bacillus, 2. der große Unterschied der Bewegungsintensität jedes einzelnen Zellindividuums.

1. Die Art der Bewegung des Anaeroben ist so, wie man sie bei den aeroben Bacillen kaum sieht, auch nicht bei den größeren Exemplaren (Subtilis, Mesentericus). Einmal gleiten die Zellen mit schlangenartiger Bewegung — große Wellen machend — durch das Gesichtsfeld, andere Zellen rollen blitzschnell um und um, ohne dabei viel die Stelle zu ändern, um plötzlich blitzartig in einer bestimmten Richtung zu verschwinden. Andere machen wieder sehr heftige Bewegungen, ohne viel den Platz zu ändern. Ich möchte beinahe sagen, daß alle Bewegungsweisen, welche man bei den *verschiedenen* aeroben Arten studiert hat, sich in einer anaeroben Kultur gleichzeitig zeigen können.

Bei den aeroben Bacillen hat jede Art ihre bestimmte Bewegungsweise, z. B. Bac. typhi eine andere als Bac. coli — die Vibrionen oder Bac. prodigiosus bewegen sich wieder ganz anders wie die übrigen Stäbchen, doch muß man diese Bewegungen alle zu den „aktiven Bewegungen" rechnen. Die sehr verschiedene Bewegungsart der einzelnen Zellen einer anaeroben Kultur möchte ich als „Polymotilität" bezeichnen.

Wohl möglich, daß diese „Polymotilität" seinen Grund hat in der öfters auftretenden „Polymorphie" dieser Bacillenarten, besonders bei den sog. Clostridrium-Arten, wo eine so große Formverschiedenheit herrscht, daß man annehmen könnte, daß bestimmte Dimensionen wieder andere Bewegungsarten auslösen können.

2. Was am meisten auffällt bei der Bewegung der Anaerobier ist, daß bei blitzartigen Bewegungen von einzelnen Individuen andere



Zellen im selben Präparat sich kaum bewegen können, andere wieder gänzlich still liegen. Man hat also die zwei Extremen dicht beisammen, was man bei den Aeroben, wenn natürlich der Hängende Tropfen tadellos angefertigt ist, kaum sieht. Besonders tritt dieses hervor bei anaeroben Kulturen von festen Nährböden, bei flüssigen Kulturen (*Tarozzis* Leberbouillon) sieht man es auch, aber weniger; hier tritt diese Eigenart erst später auf, wenn der Tropfen einige Minuten alt ist. Ich habe mich jetzt gefragt, ob diese für die Anaerobier charakteristische Eigentümlichkeit vielleicht ihren Grund darin findet, daß die Sauerstoffspannung im Hängenden Tropfen-Kämmerlein nicht minimal genug ist, um bei jedem Zellindividuum die Bewegung möglich zu machen. Selbstverständlich ist im „Hängenden Tropfen"-Präparat viel O anwesend.

Ich sann daher auf eine einfache Methode, die Beweglichkeit der Anaerobier im völlig O-freien Raum studieren zu können und fand folgendes, sehr einfaches und zuverlässiges Verfahren:

Utensilien: 1. Objektträger.

2. Glasringe (große) { hoch 1 cm; Durchschnitt 22 mm; Dicke 1 mm; Ober und Unterrand geschliffen.

3. Glasringe (klein) { hoch $^1/_2$ cm; Durchschnitt 11 mm; Dicke 1 mm; Ober- und Unterrand geschliffen.

4. Deckgläser □ 24 mm.

5. 2 Pipetten von 1 ccm.

Reagenzien: 1. Wasserglas pur.: (Natr. silicatum).

2. Acid. Pyrogallicum 22%.

3. KOH . . . . . .10%.

4. Paraffine in Schälchen mit Pipette (von $^1/_2$ ccm).

Man verfährt auf folgende Weise:

Der große Glasring wird mit seinem unteren flachen Rande in das Wasserglas getaucht und schnell mitten auf den Objektträger gelegt. Das Natr. Silicatum soll sich außen um den Ring als deutlicher *Wall anschmiegen.*

Der *kleine* Glasring wird ebenso behandelt und mitten im großen Ring deponiert.

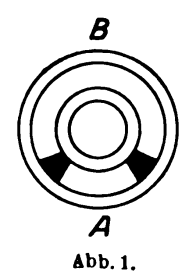


Abb. 1.

Das Ganze wird bei Zimmertemperatur getrocknet (24 Stunden) oder im Brutschrank (37 °C), bis das Wasserglas ganz hart geworden ist und die Ringe sehr fest anhaften.

Der innere Kreis — der Raum zwischen zwei Ringen — wird jetzt mittels Paraffine in eine kleinere und größere Hälfte eingeteilt, wie Abb. 1 angibt.

Am besten ist es, mit einer Pipette das *vollkommen* flüssige Paraffin einzutropfen, bis man an beiden Seiten zwei kleine Erhabenheiten von Paraffin hat. Ich will nochmals betonen, daß das Paraffin *heiß* und *dünnflüssig* sein muß, damit es sich dem Glase *genau* anschmiegen kann, wodurch allein die *vollkommene* Trennung der beiden Räume erreicht wird.

Ein großes Deckglas wird jetzt tüchtig gereinigt und flambiert. Mittels einer 1 cm-Pipette werden vorsichtig 3 Tropfen 22 proz. Pyrogallol in den Raum *A* eingetröpfelt.

Mittels einer anderen Pipette (1 cm) werden 9 Tropfen 10 proz. KOH in den Raum *B* gebracht — beide Flüssigkeiten müssen *vollständig* getrennt bleiben. Der oberste Rand des großen Glasringes wird mittels eines Streichholzes gleichmäßig mit Wasserglas bestrichen. *Sofort* wird jetzt der „Hängende Tropfen" auf dem Deckglase angefertigt und das Deckglas umgekehrt auf den Glasring gelegt und ein wenig angepreßt. Ringsum muß das Wasserglas sich genau dem Deckglase anschmiegen. Nach 2—3 Minuten ist das Deckglas fest verklebt. Dann mischt man das Pyrogallol und die Kalilauge miteinander, indem man das Präparat vorsichtig hin und her bewegt. Man schüttelt zart, bis die Flüssigkeit tief braun bis schwarz geworden ist. Das ganze wird 5—10 Minuten in den Brutschrank bei 37° C gelegt.

Der von mir beschriebene Hydrophylgase-Sauerstoffindikator[1]) zeigte, daß in 10—15 Minuten der O aus der Kammer verschwunden ist. Über die mikroskopische Beobachtung noch folgende Einzelheiten: Der Kreis, den der kleine Ring bildet, muß genau gegen das Objektiv und den *Abbe*schen Kondensor zentriert sein, ebenso der Hängende Tropfen gegen diesen Raum. Ich arbeite mit ganz offener Irisblende, Hohlspiegel und ziemlich starker Kunstlichtquelle. Abb. 2 zeigt das ganze Präparat im Durchschnitt.

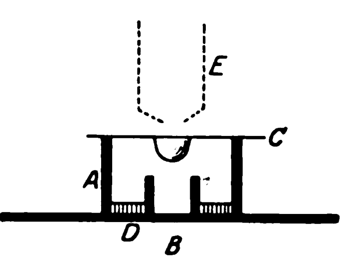


Abb. 2. *A* = Großer Glasring. *B* = Kleiner Glasring. *C* = Deckglas mit hängenden Tropfen. *D* = Paraffinblöckchen. *E* = Objektiv.

Bei der Konstruktion war es schwer, einen Stoff zu finden, welcher völligdurchsichtig war, damit der Raum innerhalb des kleinen Ringes die Lichtstrahlen des Kondensors völlig hindurchließ. Weiter mußte dieser Stoff die ziemlich starke Konzentration des Pyrogallols-Kali gut vertragen. Das war beim Wasserglas der Fall.

Nach Vollendung der Beobachtung wird das Deckglas abgenommen, der ganze Apparat gut unter dem Wasserstrahl gespült und mit etwas Watte gut getrocknet. Meistens wird man die Paraffinblöckchen erneuern müssen, wenn man wieder ein neues Präparat anfertigen will. Der obere Rand des großen Ringes wird mit Rostpapier abgerieben, damit jede Spur angetrockneten Wasserglases verschwindet. Sonst kann keine gleichmäßige Verklebung des Deckglases stattfinden, also auch keine hermetische Abschließung. Viele von meinen Versuchen scheiterten im Anfang, weil ich kein Wasserglas *pur.* gebrauchte. Es scheint, daß gewöhnliches Wasserglas flüchtige Stoffe in sich haben kann, welche die Bakterien töten. Mit dem chemisch reinen Präparat hatte ich niemals solche Erfahrungen mehr. Nach Vollendung der Beobachtung wird das ganze Präparat *demontiert,* die Ringe tüchtig gereinigt. Diese Methode hat wesentliche Vorteile vor der von *Nikiforoff*[2]) und *Braatz*[3]), weil man das ganze selbst anfertigen und bei 37° C beobachten kann.

Auf diese Weise wurden jetzt verschiedene Anaerobier auf ihre Beweglichkeit geprüft, immer daneben ein von derselben 24 Stunden

[1]) *M. van Riemsdyk,* Bakteriologisch-serologische Methoden en Recepten. Verlag Swets en Zeitlinger. Amsterdam 1921. — Zentralbl. f. Bakteriol., I. Abt. 88. 1922.

[2]) *Nikiforoff,* Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 8. 1890.

[3]) *Braatz,* Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., I. Abt., Orig. 8. 1890.

alten Kultur angefertigter gewöhnlicher (aerob) Hängender Tropfen als Kontrolle.

Es zeigte sich wirklich ein sehr großer Unterschied zugunsten des anaeroben Tropfens, wie nachstehende Tabelle zeigt.

Als Nährboden wurde gewählt der von mir beschriebene Lebergewebe-Agar[1]) (schräg), welcher in 24 Stunden gutes oberflächliches Wachstum gibt. Die Kulturen, alle 24 Stunden alt und vom selben Nährboden stammend, waren also gut zu vergleichen.

Beweglichkeit	Anaerob	Aerob
Bac. Tetani	+++	+
Bac. Botulinus I	+++	+
Bac. Botulinus III	+++	+
Bac. Oedematis maligni	+++	+
Bac. Novy	+++	+++
Bac. von Hibler	+++	+
Bac. Ghon Sachs	+++	+
Bac. Saprogenes	+++	+
Bac. Cadaveris sporogenes Klein	+++	+
Bac. Phlegmonis Emphysematosae	+++	+
Bac. Butyricus (Beyerinck)	+	+++
Bac. Butyricus (Graßberger u. Schattenfroh)	+	+++

Es ergibt sich also, daß für die meisten Anaerobier der O-Mangel von bedeutendem Einfluß auf die Beweglichkeit ist.

Wo man bei den *anaeroben* Hängenden Tropfen eine allmählich *zunehmende* Bewegung konstatieren kann, zeigt sich beim *aeroben* Hängenden Tropfen der große Kontrast in der Bewegungsintensität des einzelnen Zellindividuums und eine allmähliche Abnahme der Beweglichkeit.

Bei dem flüssigen Nährboden (*Tarozzis* Bouillon) ist der Unterschied zwischen den zwei Hängenden Tropfen nicht so auffallend, wahrscheinlich deshalb, weil in flüssigen Kulturen Bakterien überhaupt sich besser bewegen können und weil die reduzierenden Eigenschaften der Leberbouillon eine Zeitlang für die gewünschte O-Spannung sorgt.

Bac. Novy scheint sich gar nicht zu kümmern, ob O anwesend oder O abwesend ist.

Die beiden *Butyricus*bacillen zeigen aber etwas sehr Erstaunliches; sie bewegen sich viel besser *mit* als ohne O, obwohl eben diese Bakterien besonders hohe Ansprüche stellen bezüglich des O-Mangels, um überhaupt wachsen zu können. Genaue Kontrollversuche zeigten, daß es tatsächlich Reinkulturen der obligaten Anaerobionten waren mit all den charakteristischen Eigenschaften der Butyricusbacillen. Dieselben zeigten nicht nur im Lebergewebeagar und *Tarozzis* Leberbouillon, sondern auch in hoher Agarschicht (*Hesse-Liborius*) und Schrägagarkultur (Glycoseagar) dasselbe Phänomen. Wenn der anaerobe Tropfen dieser Butter-



säurebacillen nach kurzer Zeit „gelüftet“ wurde, so erlangten die Zellen wieder ihre starke Bewegung zurück.

Ich brauche kaum hervorzuheben, daß dieser paradoxe Befund von großem physiologischen Interesse ist. Es scheint also, daß es Organismen gibt, für deren Wachstum minimale Spuren O tödlich giftig sind, während andererseits O ihre Eigenbewegung anregt.

Es ist meine Absicht, diese Eigenart noch weiter zu studieren und auch noch andere Buttersäureorganismen dabei auf ihre Beweglichkeit zu untersuchen.

Die beiden Botulini — auch Buttersäuregärer — zeigen diese Eigenart nicht.

Ich glaube annehmen zu dürfen, daß bei anaeroben Bakterien die einzelnen Zellindividuen eine sehr große Differenz zeigen gegenüber schädlichen Einflüssen; dasselbe O-Gift macht eine Zahl Zellen völlig asphyktisch, während andere Individuen es ohne Schaden eine Zeitlang sehr gut vertragen können.

Durch diese Beweglichkeitsversuche ist auch deutlich geworden, warum die Züchtung von diesen Bakterien so oft mißlingt.

Diejenigen, welche mit Anaeroben arbeiten, wissen alle aus Erfahrung, daß es keine anderen Organismen gibt, welche solche rätselhafte Züchtungsresultate geben. Eine Anzahl Überimpfungen gelingt prachtvoll, auf einmal bleibt jedes Wachstum aus. Ich frage nun an der Hand von diesen Beweglichkeitsergebnissen, ob diese Eigentümlichkeit nicht davon abhängt, ob man im Impfmaterial viele schwächliche oder viele O-resistente Zellindividuen hat. Überwiegen die O-resistenten, so wird die Züchtung gelingen, anderenfalls können die schwächlichen Keime selbst für den kurzen Moment des Überimpfens den O nicht vertragen. Aus diesem Grunde muß man immer ziemlich große Mengen Kultur überimpfen, damit genügend resistente Formen übertragen werden.

Für die richtige Diagnose der anaeroben Bacillen glaube ich, daß es zu empfehlen ist, die Beweglichkeit unbedingt im *anaeroben Hängenden Tropfen* zu studieren.

(Mitteilung aus dem staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg. [Direktor: Prof. Dr. *Dunbar*].)

Beitrag zur Bestimmung der Alkalität in Wässern und Nährböden.

Von

Prof. Dr. **H. Noll.**

I. *Alkalitätsbestimmung in Wässern.*

Bei der Alkalitätsbestimmung in Wässern kommt in der Regel die direkte Titration nach Lunge mit $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure oder Salzsäure unter Verwendung von Methylorange als Indicator zur Anwendung. 1 ccm der verbrauchten Säure entspricht dabei 2,2 mg gebundener Kohlensäure, wohingegen zur Ermittelung der Carbonathärte die für 100 ccm Wasser verbrauchten Kubikzentimeter Säure mit 2,8 multipliziert werden müssen. Ich habe früher schon in einem Aufsatz[1]) „Beitrag zur Bestimmung der Härte, sowie der freien, halbgebundenen und gebundenen Kohlensäure in Wässern" darauf hingewiesen, daß bei diesem direkten Verfahren die gebundene Kohlensäure, einschl. der an Eisen gebundenen, nur dann richtig gefunden werden kann, wenn das Eisen noch nicht zur Ausfällung gekommen ist, also die Bestimmung gleich nach der Entnahme des Wassers vorgenommen wird, da die an Eisen gebundene Kohlensäure nach dem Ausfällen des Eisens nicht mittitriert wird. Ebenso kann die Bestimmung der Carbonathärte nur dann zu richtigen Ergebnissen führen, wenn man die Titration nach dem Ausfallen des Eisens ausführt, da man sie andernfalls um die für Eisen verbrauchte Säure zu hoch findet. Anderseits kann die Alkalität des Wassers auch auf indirektem Wege bestimmt werden, wobei 100 ccm Wasser mit 10 bzw. 20 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure oder Salzsäure versetzt und dann ca. 5 Minuten zur Vertreibung der Kohlensäure gekocht werden. Nach dem Erkalten wird die nicht verbrauchte Säure mit $^{n}/_{10}$-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphthalein oder Azolithmin (Lackmus) zurücktitriert. Die verbrauchten Kubikzentimeter Säure, mit 2,2 multipliziert, zeigen dann die in 100 ccm vorhandene Menge an gebundener Kohlensäure in Milligrammen und mit 2,8 multipliziert die Carbonathärte des Wassers in deutschen Härtegraden an. Bei dem indirekten Verfahren wird die an Eisen

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. Jahrg. 21, Heft 14, S. 640ff. 1908.



gebundene Kohlensäure nicht mittitriert, so daß, um die Gesamtmenge an gebundener Kohlensäure zu bekommen, eine Korrektur auf Eisen angebracht werden muß. Diese beträgt nach den Äquivalentgewichten der Kohlensäure und des Eisenoxyds für 1 mg $Fe_2O_3 \frac{88}{160} =$ 0,55 mg, die dem gefundenen Werte hinzuaddiert werden müssen. Für die Bestimmung der Carbonathärte kommt in diesem Falle keine Korrektur in Frage, da beim Zurücktitrieren der nicht verbrauchten Säure die für Eisen verbrauchte Säure wegen der Unlöslichkeit des Eisenoxydhydrats wieder mittitriert wird, also die verbrauchten Kubikzentimeter mit 2,8 multipliziert direkt die Carbonathärte ergeben müssen. Es ist bei dieser Titration gleichgültig, ob das Eisen schon ganz ausgefallen oder zum Teil noch in Lösung vorhanden ist.

Bei der indirekten Bestimmung ist es erforderlich, die beim Zurücktitrieren der nicht verbrauchten Säure erforderlichen Kubikzentimeter $^n/_{10}$-Natronlauge auf den Phenolphthaleintiter zu korrigieren, da von einer auf Methylorange genau eingestellten Natronlauge bei Verwendung von Phenolphthalein eine über den Methylorangetiter hinausgehende Menge verbraucht wird. Dieses Plus hängt ab von den in der Natronlauge vorhandenen Carbonaten und kann auch andererseits von der bei der Titration zugesetzten Menge an Phenolphthalein bzw. Azolithmin beeinflußt werden. Wenn die Titerfrage auch im allgemeinen wohl bekannt sein dürfte, so möchte ich sie doch nochmal einer kurzen Besprechung unterziehen, da sie in manchen Lehrbüchern gar nicht berücksichtigt ist und auch weil die Ansichten über die Ursachen der Titerunterschiede in mancher Weise auseinandergehen. So findet sich z. B. in einer neueren Arbeit von Dr. *Joseph Reitstötter*[1]) in Wien „Bemerkungen über die Alkalität von Nährbouillon und Nährböden unter Verwendung von Indikatoren" folgender Passus: „Aus der zum Farbenumschlag erforderlichen Wasserstoffionenkonzentration der einzelnen Indicatoren ergibt sich auch die von *Scholz*[2]) beobachtete Tatsache, daß der *Farbenumschlag bei den einzelnen Indikatoren nicht bei Zusatz der gleichen Menge Säure oder Base eintritt.*

So findet für 10 ccm $^n/_{100}$-Natronlauge der Farbenumschlag statt nach Zusatz von

	Phenolphthalein	Lackmus	Methylorange
$^n/_{100}$-Salzsäure	9,7 ccm	9,85 ccm	10,7 ccm

Setzt man aber umgekehrt Lauge zur Säure, so braucht man für 10 ccm $^n/_{100}$-Salzsäure zum Umschlag bei

	Phenolphthalein	Lackmus	Methylorange
$^n/_{100}$-NaOH	10,1 ccm	9,9 ccm	9,9 ccm

[1]) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **90**, 218ff. 1920.

[2]) Arch. d. Pharm. **242**, 575. 1902; Zeitschr. f. Elektrochem. **10**, 549. 1904.



Ein Zusammentreffen von schwacher zu titrierender Base mit schwacher Indicatorensäure oder von schwacher zu titrierender Säure mit starker Indicatorenbase muß daher stets vermieden werden“ usw.

Bei den obigen Zahlen mußten zunächst die großen Unterschiede bei den Titrationen mit Methylorange auffallen und es mußte zweifelhaft erscheinen, daß bei Benutzung eingestellter Lösungen bei der Titration von Säure in Lauge der Umschlag später eintreten soll, als umgekehrt bei der Titration von Lauge in Säure, denn anderenfalls würde die Brauchbarkeit der Titration von Säuren und Laugen mit Hilfe von Methylorange ja ganz in Frage gestellt werden. Bei der Verwendung von Phenolphthalein rufen die in der Lauge meistens in kleinen Mengen vorhandenen Carbonate Unterschiede bei der Titration hervor. Besteht z. B. eine $^{n}/_{10}$-Natronlauge zu $^{9}/_{10}$ aus Natronlauge und zu $^{1}/_{10}$ aus Natriumcarbonatlösung, so müssen bei der Titration von Lauge in Säure bei Anwendung von 10 ccm Säure 10,5 ccm Lauge verbraucht werden, da aus 1 ccm $^{n}/_{10}$-Natriumcarbonat 2,2 mg Kohlensäure frei werden, die bis zur Rotfärbung, also bis zur Umwandlung in Bicarbonat, noch weitere 0,5 ccm Lauge verbrauchen. Titriert man aber umgekehrt Säure in Lauge, so werden für 10 ccm Lauge nur 9,5 ccm Säure verbraucht, da die freie Kohlensäure als Säure mitwirkt und den Verbrauch an Säure um 0,5 ccm herabsetzt. Um den Einfluß der Soda bei den Titrationen mehr zum Ausdruck zu bringen, habe ich eine Reihe von Bestimmungen unter Verwendung von Methylorange, Azolithmin (an Stelle von Lackmus) und Phenolphtalein ausgeführt, wobei ich eine Lauge mit reichlichen Mengen an Carbonat benutzte. Die Ergebnisse darüber befinden sich auf Tab. I. Aus diesen geht hervor, daß die Titrationen mit Methylorange eine sehr gute Übereinstimmung zeigen, da für 20 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure 19,95 ccm $^{n}/_{10}$-Natronlauge und umgekehrt für 20 ccm $^{n}/_{10}$-Natronlauge 20,05 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure verbraucht wurden. Bei Verwendung von Methylorange ist es also ganz gleichgültig, ob man Lauge in Säure oder Säure in Lauge titriert, die Ergebnisse sind die gleichen und die Umschläge lassen sich bis auf einen Tropfen genau beobachten. Bei der Verwendung von Azolithmin und Phenolphthalein zeigt es sich, daß beide Indicatoren ziemlich in der gleichen Weise auf Kohlensäure reagieren und infolge der sodahaltigen Natronlauge nach der einen Seite hin mehr Natronlauge und nach der anderen Seite hin weniger Säure verbraucht wird, als bei der Verwendung von Methylorange. Ebenfalls zeigt sich, daß die Differenzen sich noch erhöhen, wenn die Indicatoren in geringeren Mengen zugesetzt werden. Phenolphthalein ist für diese Titrationen sehr geeignet, da der Umschlag, wenn er auch langsam erfolgt, genau festgestellt werden kann, was bei Azolithmin wegen der entstehenden Mischfarbe schwer möglich ist. Bei Verwendung von Phenolphthalein wurden Lösungen von



1 : 100 und 1 : 2000 benutzt und davon 0,5 ccm für 100 ccm Flüssigkeit zugesetzt, während beim Azolithmin Lösungen von 1 : 100 und 1 : 1000 und davon 2 ccm zur Anwendung kamen, wobei sich die schwache Lösung am geeignetsten erwies. Da bei geringerem Zusatz der Indica-

Tabelle I.

Titration von sodahaltiger Natronlauge[1]) *mit Schwefelsäure und von Schwefelsäure mit sodahaltiger Natronlauge unter Verwendung von Methylorange, Azolithmin und Phenolphtalein als Indicatoren.*

Angewandtes Wasser	1. Methylorange 1 : 1000 2 Tropfen	2. Azolithmin 1 : 100 2 ccm	3. Phenolphthalein 1 : 100 0,5 ccm	Differenzen von 2 und 3 : 1 +	−
		Verbrauch an $^{n}/_{10}$-NaOH			
100 ccm ausgekochtes dest. Wasser + 20 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4	19,95	20,80	21,1	+ 0,85	+ 1,15
Dgl.	19,95	20,70	21,1	+ 0,75	+ 1,15
		Verbrauch an $^{n}/_{10}$-H_2SO_4			
100 ccm ausgekochtes dest. Wasser + 20 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH	20,05	18,80	18,70	− 1,25	− 1,35
Dgl.	20,05	18,80	18,70	− 1,25	− 1,35

Angewandtes Wasser	1. Methylorange 1 : 1000 2 Tropfen	2. Azolithmin 1 : 1000 2 ccm	3. Phenolphthalein 1 : 2000 0,5 ccm	Differenzen von 2 und 3 : 1 +	−
		Verbrauch an $^{n}/_{10}$-NaOH			
100 ccm ausgekochtes dest. Wasser + 20 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4	20,0	21,10	21,25	+ 1,1	+ 1,25
Dgl.	19,95	21,10	21,25	+ 1,15	+ 1,30
		Verbrauch an $^{n}/_{10}$-H_2SO_4			
100 ccm ausgekochtes dest. Wasser + 20 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH	20,10	18,90	18,65	− 1,2	− 1,45
Dgl.	20,10	18,85	18,65	− 1,25	− 1,45

toren sich die Differenzen in den Befunden im Vergleich zur Methylorange erhöhen, so ist es natürlich erforderlich, daß bei der Einstellung des Titers und bei der Alkalitätsbestimmung des Wassers die Indicatoren immer in der gleichen Menge zugesetzt werden, was auch von *Reitstötter* in seinem oben erwähnten Aufsatz hervorgehoben wird. *Reitstötter* sagt: „Da, wie wir vorher gesehen haben, der Farbenumschlag der Indicatoren auf Grund der Massenwirkung der Wasserstoff-

[1]) 20 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH + 0,1 ccm Phenolphthalein 1 : 100 + 5 ccm Chlorbaryumlösung 1 : 10 verbrauchten 17,7 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 = 2.3 ccm $^{n}/_{10}$-Sodalösung.



(Hydroxyl-)ionen eintritt, so wird man auch bei einem und demselben Indicator zur Zurückdrängung bzw. Hervorrufung der mit dem Farbenumschlag einhergehenden Dissoziationen je nach der von ihm vorhan denen Menge mehr oder weniger Säure bzw. Base brauchen. Es ist daher notwendig, *stets nur eine geringe Menge von Indicatoren zu nehmen*, und muß auch getrachtet werden, immer *die gleiche Menge Indicatoren zu nehmen*, wie *seinerzeit bei der Titerstellung benutzt worden ist.*" Der letztere Hinweis ist zutreffend, wohingegen bei Verwendung von Azolithmin oder Phenolphthalein, wenn sich auch die Unterschiede im Verbrauch an Säure bzw. Lauge im Vergleich zum Methylorangetiter, je nachdem stärkere oder schwächere Indicatorenlösungen zur Anwendung gekommen sind, mehr erhöhen oder verringern, die Alkalitätswerte dadurch nicht beeinflußt werden können, weil die verbrauchten Mengen an Säure bzw. Base dem Titer entsprechend immer wieder auf das richtige Maß reduziert werden. Der Sodagehalt der für die auf Tab. I verzeichneten Befunde benutzten Natronlauge, der unter Zusatz von Chlorbaryumlösung mit $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure und Phenolphthalein festgestellt wurde, betrug 2,3 ccm. Es ergaben sich nun beim Titrieren von Lauge in Säure mit der stärkeren Phenolphthaleinlösung Differenzen von 1,15 ccm, die der Hälfte der Carbonate, also dem theoretischen Wert gleichkommen. Bei der Titration von Säure in Lauge wurden die Differenzen etwas höher und mit 1,35 ccm festgestellt, was ohne Frage darauf zurückzuführen sein dürfte, daß die Lauge bei der Titration längere Zeit mit der Luft in Berührung bleibt und kleine Kohlensäuremengen aufgenommen werden, wodurch der Verbrauch an Säure sich vermindern muß. Daß diese höheren Werte auf diesen Umstand zurückzuführen sind, ergibt sich schon daraus, daß sich bei einer langsam ausgeführten Titration immer größere Differenzen ergeben, als bei einer schnell ausgeführten, bei der die Säure mit einem Male zugesetzt wird. Bei der Titration von Lauge in Säure kann eine Aufnahme von Kohlensäure nicht so leicht erfolgen, da die Lauge sofort durch die Säure umgesetzt wird. Da für die Alkalitätsbestimmung eigentlich nur die letztere Titration in Frage kommt, so sind also von dieser Seite aus keine Fehler zu erwarten. Jedenfalls kann aus den erhaltenen Befunden der Schluß gezogen werden, daß die Differenzen in der Hauptsache dem Sodagehalt der Natronlauge ihren Ursprung verdanken; aber auch in geringem Maße durch einen größeren oder kleineren Zusatz der Indicatoren beeinflußt werden können.

In der oben von *Reitstötter* angeführten Tabelle von *Scholz* liegen die beim Titrieren von Lauge in Säure unter Verwendung von Lackmus und Phenolphthalein erhaltenen Werte etwas höher, als die beim Titrieren von Säure in Lauge erhaltenen Werte. Ob sie aber zutreffend sind, läßt sich ohne weiteres nicht sagen, da man nicht weiß, wie groß



der Carbonatgehalt der Lauge und wie stark die benutzten Indicatorenlösungen waren. Beide Faktoren dürften aber die festgestellten kleinen Unterschiede verursacht haben.

Bei Versuchen, die Alkalitätsbestimmungen mit $^{n}/_{100}$-Lösungen auszuführen, wurden bei Verwendung von Azolithmin und Phenolphthalein die gleichen Beobachtungen gemacht, wie bei $^{n}/_{10}$-Lösungen, wohingegen bei Verwendung von Methylorange der Umschlag weniger gut beobachtet werden konnte. Während es mit reinen $^{n}/_{100}$-Lösungen schon schwierig war, das Ende der Titration festzustellen, so wurden bei weiteren Verdünnungen die Umschläge so unscharf, daß die Grenze nicht mehr richtig gefunden werden konnte. Daß bei der Titration mit Methylorange die Grenze bei $^{n}/_{100}$-Lösungen liegt, darauf ist auch schon von anderer Seite[1]) hingewiesen worden. Da die von *Scholz* festgestellten und von *Reitstötter* angeführten Ergebnisse mit $^{n}/_{100}$-Lösungen erhalten worden sind, so dürften die bei Verwendung von Methylorange festgestellten Differenzen beim Titrieren von Lauge in Säure und umgekehrt von Säure in Lauge wohl auf diesen Umstand zurückzuführen sein. Betreffs der Brauchbarkeit der Indicatoren für Alkalitätsbestimmungen kann also gesagt werden, daß man bei Verwendung von Methylorange nur mit $^{n}/_{10}$-Lösungen arbeiten sollte und daß von den kohlensäureempfindlichen Indicatoren dem Phenolphthalein der Vorrang gebührt, da die beim Azolithmin entstehende Mischfarbe zu unsicheren Ergebnissen führen muß.

Der Phenolphthaleintiter kann, außer wie oben angegeben, auch in der Weise ermittelt werden, daß man 100 ccm destilliertes Wasser mit der entsprechenden Menge Phenolphthalein versetzt und tropfenweise Lauge bis zur bleibenden Rötung zufließen läßt. Darauf werden 20 ccm Säure hinzugesetzt und dann wieder bis zur bleibenden Rotfärbung titriert. Für gewöhnlich dürfte sich aber das erstere Verfahren empfehlen, da bei der Alkalitätsbestimmung in Wässern nach dem Auskochen der Flüssigkeit in der Regel ganz kleine Mengen an Kohlensäure in Lösung bleiben und die dadurch entstehenden Fehler sich dann gegenseitig aufheben.

Auf Tab. II befinden sich die Ergebnisse einer Reihe von Alkalitätsbestimmungen, die unter Verwendung von Methylorange und Phenolphthalein erhalten wurden. Mit Methylorange wurde eine Probe direkt und zwei andere wurden indirekt titriert. Von den beiden letzten Proben war bei der einen die Kohlensäure ausgekocht worden. Mit Phenolphthalein wurden zwei Bestimmungen und zwar die eine mit starker und die andere mit schwacher Phenolphthaleinlösung aus-

[1]) Dr. *Fritz Glaser*, Indicatoren der Acidimetrie und Alkalimetrie, S. 50. C. W. Kreidels Verlag, Wiesbaden 1901.



Tabelle II. Vergleichende Untersuchungen über Alkalitätsbestimmungen in Wässern auf direktem und indirektem Wege unter Verwendung von Methylorange oder Phenolphthalein als Indicatoren.

Lfd. Nr.	Art und Menge des angewandten Wassers	Angewandter Indicator	Zugesetzte Menge an n/10 H_2SO_4 für indirekte Bestimmungen ccm	Verbrauch an n/10 NaOH beim Zurücktitrieren ccm	Phenolphtaleintiter im Vergleich zum Methylorangetiter	Verbrauch an n/10 NaOH auf den Titer korrigiert ccm	Verbrauch an n/10 H_2SO_4 für die angewandte Wassermenge ccm	Gebundene CO_2 im Liter mg
1	Leitungswasser 100 ccm	Methylorange 1:1000	—	—	—	—	2,15	47,3
1a	dgl.	2 Tropfen	—	—	—	—	2,15	47,3
2	dgl.	Phenolphthalein 1:100	20,0	18,80	21,1 :20	17,82	2,18	47,96
2a	dgl.	0,5 ccm	20,0	18,80		17,82	2,18	47,96
3	dgl.	Phenolphthalein 1:2000	20,0	18,95	21,25:20	17,83	2,17	47,74
3a	dgl.	0,5 ccm	20,0	18,95		17,83	2,17	47,74
4	dgl.	Methylorange 1:1000	20,0	17,80	—	—	2,20	48,40
4a	dgl.	2 Tropfen	20,0	17,80	—	—	2,20	48,40
5[1]	dgl.	Methylorange 1:1000	20,0	17,85	—	—	2,15	47,30
5a[1]	dgl.	2 Tropfen	20,0	17,85	—	—	2,15	47,30
6	Saalewasser Grizehne 100 ccm	Methylorange 1:1000	20,0	—	—	—	3,20	70,40
6a	dgl.	2 Tropfen	20,0	—	—	—	3,25	71,50
7	dgl.	Phenolphthalein 1:100	20,0	17,65	21,1 :20	16,73	3,27	71,94
7a	dgl.	0,5 ccm	20,0	17,60		16,68	3,32	73,04
8	dgl.	Phenolphthalein 1:2000	20,0	17,80	21,25:20	16,75	3,25	71,50
8a	dgl.	0,5 ccm	20,0	17,75		16,70	3,30	72,60
9	dgl.	Methylorange 1:1000	20,0	16,60	—	—	3,40	74,80
9a	dgl.	2 Tropfen	20,0	16,65	—	—	3,35	73,70
10	dgl.	Methylorange 1:1000	20,0	16,75	—	—	3,25	71,50
10a	dgl.	2 Tropfen	20,0	16,70	—	—	3,30	72,60
11	Elbwasser (Artlenburg) 100 ccm	Methylorange 1:1000 2 Tropfen	20,0	—	—	—	1,80	39,60
12	dgl.	Phenolphthalein 1:100 0,5 ccm	20,0	19,10	21,1 :20	18,10	1,90	41,80
13	dgl.	Phenolphthalein 1:2000 0,5 ccm	20,0	19,30	21,25:20	18,17	1,83	40,26
14	dgl.	Methylorange 1:1000 2 Tropfen	20,0	18,15	—	—	1,85	40,70
15[1]	dgl.	Methylorange 1:1000 2 Tropfen	20,0	18,20	—	—	1,80	39,60

[1]) Kohlensäure nicht ausgekocht.

geführt. Aus diesen Befunden ist zu ersehen, daß bei Verwendung von Methylorange bei der direkten und auch bei der indirekten Bestimmung, bei denen die Kohlensäure nicht ausgetrieben war, etwas niedrigere Werte erhalten wurden, als bei der Bestimmung, bei der die Kohlensäure ausgekocht war, was auf den Umstand zurückzuführen sein dürfte, daß Methylorange auch nicht ganz unempfindlich gegen Kohlensäure ist und diese als Säure bei der Titration mitgewirkt hat. Der nach dem Auskochen erhaltene indirekte Befund muß als der zutreffendste angesehen werden, er steht im Einklange mit den unter Benutzung von Phenolphthalein erhaltenen indirekten Befunden, bei denen sowohl mit starker als auch mit schwacher Indicatorlösung gleich gute Ergebnisse erhalten wurden. Mit so hohen Phenolphthaleintitern, wie sie bei diesen Versuchen festgestellt wurden, wird man in der Praxis wohl selten zu rechnen haben, da der Carbonatgehalt in den Laugen meistens nur gering ist; der höhere Carbonatgehalt der Lauge bei meinen Versuchen sollte auch nur dazu dienen, um die dadurch entstehenden Unterschiede mehr hervortreten zu lassen.

Außer durch Carbonate können die Alkalitätsbestimmungen durch Humate und Silicate, sowie auch durch Eisen- und Aluminiumverbindungen beeinflußt werden. In einer von *C. Blacher*, *M. Koester* und *J. Jacoby*[1]) in Riga gebrachten Veröffentlichung „Die systematische Schnellanalyse der Gebrauchswässer" findet sich folgender Passus:

„Alkalität (Bicarbonate).

Zur Bestimmung der Alkalität titriert man 100 ccm des Wassers wie gewöhnlich in Gegenwart von Methylorange mit 0,1 n-Salzsäure bis zum Auftreten der Übergangsfarbe. Wenn der Umschlag unscharf ist, was auf Kieselsäure oder Huminsäure deutet, setzt man die Titration fort, bis man eine unzweifelhafte Methylorangerötung erhält, verdrängt durch einen kräftigen Luftstrom die Kohlensäure (man kann dieselbe auch natürlich durch Auskochen entfernen) und titriert in Gegenwart von Phenolphthalein mit 0,1 n-alkoholischer Kalilauge zurück. Im ersteren Falle sind es die verbrauchten Kubikzentimeter Salzsäure direkt, im zweiten abzüglich der verbrauchten Kubikzentimeter Lauge, welche mit 2,8 multipliziert, die Alkalität in deutschen Härtegraden ergeben, welche bei rohem ungereinigtem Wasser nur aus *Bicarbonaten* besteht. Die für das Zurücktitrieren verbrauchten Kubikzentimeter alkoholischer Kalilauge ergeben, mit 2,8 multipliziert, die ungefähre Menge an Huminsäuren oder Kieselsäure, gleichfalls in deutschen Einheiten ausgedrückt. Daß man auf den Phenolphthaleinneutralpunkt zurücktitriert, bringt ja eine Ungenauigkeit mit sich,

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. **22**, 967. 1909.

doch ist dieselbe sehr gering — nach obigen Ausführungen entspricht sie bei 100 ccm Analysenflüssigkeit einer Differenz von 0,1 ccm 0,1 n-Säure — spielt also keine Rolle, sobald die Bestimmung der Alkalität schon an und für sich schwierig ist."

Zu diesen Ausführungen muß folgendes bemerkt werden: Da Huminsäuren nicht auf Methylorange, wohl aber auf Phenolphthalein reagieren, so muß beim Vorhandensein von Humaten bei Benutzung von Methylorange die Alkalität den Humaten entsprechend höher gefunden werden, wohingegen beim indirekten Verfahren mit Phenolphthalein die ausgeschiedenen Huminsäuren wieder mit zurücktitriert werden, also nur die den Carbonaten entsprechende Alkalität gefunden wird. Die Kieselsäure bzw. Silicate kommen entgegen den Ansichten der Autoren nur insofern in Betracht, als die Alkalität bei Benutzung von Methylorange den Silicaten entsprechend höher gefunden wird. Beim Zurücktitrieren mit Phenolphthalein wird aber die Kieselsäure wegen ihrer Unlöslichkeit auch nicht mittitriert, so daß eine Differenz bei den beiden Titrationen nicht entstehen kann. Diese Feststellungen sind von *K. Farnsteiner*[1]) in einer sehr sorgfältigen Arbeit „Untersuchung über ein Verfahren zur Bestimmung des wahren Alkalitätswertes der Aschen" gemacht worden und konnten auch von mir bestätigt werden. Die Ergebnisse darüber befinden sich auf Tab. III. Diese zeigen, daß die Titration bei Anwendung der direkten Methode mit Methylorange und der indirekten Methode mit Phenolphthalein übereinstimmend ausfallen, also durch die Silicate Unterschiede in den Befunden nicht hervorgerufen werden. Die Silicate werden also in beiden Fällen als Carbonate mitgefunden.

Tabelle III.

Titration von Natriumsilicatlösungen (10 ccm = 39,5 mg SiO_2).

Angewandte Lösung	Direkte Methode mit Methylorange	Indirekte Methode mit Phenolphthalein	
	Verbrauch an $^n/_{10}$ H_2SO_4 ccm	Verbrauch an $^n/_{10}$ NaOH ccm	Verbrauch an $^n/_{10}$ H_2SO_4 ccm
10 ccm Silicatlösung + 100 ccm dest. Wasser	8,4	—	—
20 „ „ + 100 „ „ „	16,9	—	—
10 „ „ + 100 „ „ „	—	1,6	8,4
20 „ „ + 100 „ „ „	—	3,4	16,6

Sind die Säuren im freien Zustande vorhanden, so können sich nur die Huminsäuren insofern bemerkbar machen, als man bei Benutzung von Phenolphthalein beim Zurücktitrieren der Säure den Huminsäuren entsprechend über den Titer titriert. In derartigen Wässern kann natürlich keine Alkalität vorhanden sein.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **13**. 305ff. 1907.



Des weiteren haben die Autoren keine Rücksicht auf etwa vorhandene Eisenverbindungen genommen. Wie ich schon zu Anfang meines Aufsatzes bemerkte, wird in Gegenwart von Methylorange das Eisenbicarbonat mittitriert, wenn die Titration gleich nach der Entnahme des Wassers vorgenommen wird, also wenn noch kein Eisen ausgefallen ist, wohingegen bei der indirekten Bestimmung mit Phenolphthalein die für Eisen verbrauchte Säure wieder mit zurücktitriert, also die richtige Alkalität gefunden wird. Nach den Angaben der Autoren würden also auch diese auf Eisen kommenden Differenzen mit für Huminsäuren bzw. Kieselsäure gebucht werden. Ist dagegen das Eisen an Mineralsäuren gebunden, was natürlich nur in Wässern vorkommen kann, die keine Alkalität aufweisen, so werden die Eisenverbindungen bei Gegenwart von Methylorange nicht mittitriert, weil die mineralsauren Eisensalze nicht auf diesen Indicator reagieren. Bei Verwendung von Phenolphthalein wird dagegen den Eisenverbindungen entsprechend über den Titer titriert werden, so daß in diesem Falle auch fälschlich auf das Vorhandensein von Huminsäuren geschlossen werden könnte. Diese Überlegungen sind nötig, um sich über die Ergebnisse bei den Alkalitätsbestimmungen ein richtiges Urteil bilden zu können.

II. Alkalitätsbestimmungen in Nährböden.

Meinen Ausführungen über die Alkalitätsbestimmungen in Wässern möchte ich, angeregt durch die oben zitierte Arbeit von *Reitstötter*, noch einige Mitteilungen über die Alkalitätsbestimmung in Nährböden folgen lassen.

Die Nährbouillon, sowie die Nährböden zeigen nach ihrer Herstellung zunächst einen sauren Charakter, der auf organische Säuren, phosphorsaure Salze usw. zurückzuführen ist. Nach der Neutralisation mit Lauge unter Verwendung von Lackmuspapier oder Phenolphthalein wird den Nährböden eine bestimmte Menge an Soda zugesetzt und nachdem sie dann noch einmal im Dampftopf erhitzt worden sind, wird die Bestimmung der Alkalität vorgenommen. Diese kompliziert sich etwas durch die in den Nährböden vorhandenen Phosphate, die eine verschiedene Reaktion auf die zur Verwendung kommenden Indicatoren ausüben und dadurch die Alkalitätsbestimmung erschweren können. Die Phosphate können in den Nährböden als primäre, sekundäre und tertiäre Salze vorhanden sein, d. h. entweder einzeln oder als primäre und sekundäre bzw. sekundäre und tertiäre, da alle drei Salze nebeneinander nicht existieren können. Sind die Phosphate bei den ursprünglich sauren Nährböden an der sauren Reaktion beteiligt, so können nur primäre oder primäre und sekundäre Salze zugegen sein, von denen die primären Salze dann bei der Neutralisation in sekundäre Salze umgewandelt werden. Beim Alkalisieren werden, falls Soda in genügender



Menge zugesetzt wird, die sekundären Salze dann in tertiäre Salze übergeführt, wohingegen bei ungenügendem Sodazusatz neben tertiären Salzen auch noch sekundäre Salze bestehen bleiben können. Die primären Phosphate reagieren auf Lackmus sauer und die sekundären und tertiären Phosphate alkalisch, wohingegen beim Phenolphthalein die alkalische Reaktion erst beim tertiären Salz eintritt. Hiernach sollte man annehmen, daß auf diesen Umstand der Unterschied zwischen dem Lackmus und Phenolphthaleinneutralpunkt zurückzuführen sei. Daß dies aber nicht der Fall ist, soll nachstehend weiter ausgeführt werden. In Lösungen ist der Lackmusneutralpunkt schwer festzustellen, da sich eine Mischfarbe von rot und blau ergibt, die es verhindert, den Neutralpunkt, d. h. den Endpunkt festzustellen, wo die primären Phosphate vollständig in die sekundären Phosphate übergeführt sind. Wird dagegen Lackmuspapier verwendet, so läßt sich der Neutralpunkt genau ermitteln, er ist dann erreicht, wenn das blaue Lackmuspapier nicht mehr gerötet wird, sondern vielmehr die Tendenz zeigt, noch blauer zu werden. Hierauf ist auch von *Reitstötter* hingewiesen worden. Der so festgestellte Lackmusneutralpunkt muß sich aber mit dem Phenolphthaleinneutralpunkt decken, da auch bei diesem der Umschlag in Rot erst dann eintritt, wenn die primären Phosphate in die sekundären überführt sind und durch weiteren Zusatz von Natronlauge tertiäres Phosphat gebildet wird. Daß diese Umschläge bei den beiden Indicatoren in der angegebenen Weise eintreten, habe ich bei einer Reihe von Versuchen mit primären, sekundären und tertiären Phosphatlösungen feststellen und damit die Literaturangaben bestätigen können. Der Unterschied beim Lackmus- und Phenolphthaleinneutralpunkte ist ausschließlich auf den Carbonatgehalt der zur Neutralisation benutzten Lauge zurückzuführen. Beim Neutralisieren der aus den Carbonaten freiwerdenden Kohlensäure wird der Neutralpunkt bei Benutzung von Lackmus eher erreicht, als bei Benutzung von Phenolphthalein, weil bei diesem die Endreaktion erst dann eintritt, wenn die Kohlensäure vollständig in Bicarbonat überführt ist, wohingegen die Bicarbonate auch bei Gegenwart von freier Kohlensäure auf Lackmuspapier schon alkalisch reagieren können. Dementsprechend müssen die beiden Neutralpunkte auch, je nach dem Gehalt an Soda näher oder weiter voneinander liegen. Hieraus ergibt sich, daß beim Neutralisieren der Nährböden beim Eintritt des Neutralpunktes schon eine gewisse Menge Soda (Bicarbonat) vorhanden sein kann, um die die Alkalität höher ausfallen muß, als der zugesetzten Soda entspricht. Aus diesem Grunde ist es auch angezeigt, die Alkalität der Nährböden, sobald diese ganz fertig gestellt sind, noch einmal zu kontrollieren.

Beim Neutralisieren und auch bei der Alkalitätsbestimmung der Nährböden in Gegenwart von Phenolphthalein ist es natürlich erforderlich,



den Phenolphthaleintiter zu berücksichtigen. Der Phenolphthaleinneutralpunkt wurde in der Weise festgestellt, daß 25 ccm des Nährbodens mit 175 ccm dest. Wassers bis zur Vertreibung der Kohlensäure gekocht wurden und dann der Säuregrad mit $^{n}/_{10}$-Natronlauge gemessen wurde. Bei alkalisierten Nährböden wird ebenso verfahren, nur mit dem Unterschiede, daß noch 10 ccm $^{n}/_{10}$-Schwefelsäure zugesetzt werden. Nach dem Kochen wird die nicht verbrauchte Säure zurücktitriert und aus der Differenz die Alkalität berechnet. An Phenolphthalein wurde für 200 ccm Flüssigkeit stets 1 ccm einer 1 proz. Lösung zugesetzt.

Nachstehend möchte ich zwei Beispiele über die Neutralisierung und Alkalisierung von Nährböden folgen lassen.

1. 25 ccm einer *Pferdefleisch-Gelatine* (Pepton Witte) verbrauchten im Mittel von zwei Bestimmungen:

a) nach der Tüpfelmethode mit Lackmuspapier 10 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH,

b) nach der Phenolphthaleinmethode 10,3 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH.

Demnach wurden für 200 ccm Gelatine nach dem Phenolphthaleinneutralpunkt zur Neutralisation erforderlich 82,4 ccm $^{n}/_{10}$ = 8,24 ccm $^{n}/_{1}$-NaOH. Ferner wurden der Gelatine 1,2 ccm 10proz. Sodalösung zugesetzt, wonach die Gelatine eine Alkalität von 0,06% Soda aufweisen mußte. Gefunden wurden im Mittel von zwei Bestimmungen:

a) nach der Tüpfelmethode mit Lackmuspapier 0,052% Na_2CO_3,

b) nach der Phenolphthaleinmethode 0,063% Na_2O_3.

2. 25 ccm *Pferdefleich-Agar* (Pepton Witte) verbrauchten im Mittel von zwei Bestimmungen:

a) unter Verwendung von Lackmuspapier 3,75 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH,

b) nach der Phenolphthaleinmethode 4,0 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH.

Unter Zugrundelegung des Phenolphthaleinneutralpunktes wurden zugesetzt für 400 ccm Agar 64 ccm $^{n}/_{10}$ = 6,4 ccm $^{n}/_{1}$-NaOH und 2,8 ccm 10proz. Sodalösung = einer Alkalität von 0,07% Na_2CO_3. Gefunden wurden im Mittel:

a) nach der Lackmusmethode 0,055% Na_2CO_3,

b) nach der Phenolphthaleinmethode 0,067% Na_2CO_3.

Diese Versuche sind dann noch verschiedentlich wiederholt und namentlich in einer Reihe von Nährböden der Alkalitätsgrad auf diese Weise bestimmt worden, wobei sich zeigte, daß die Resultate auch manchmal ganz gleich ausfielen oder auch, daß nach der Tüpfelmethode etwas höhere Befunde erhalten wurden, aber die Differenzen bewegten sich immer in der Höhe von ca. 0,01% Na_2CO_3. Aus den Ergebnissen geht also hervor, daß man mit beiden Verfahren zu brauchbaren Resultaten gelangen kann. Für die Praxis empfiehlt sich die Phenolphthaleinmethode im allgemeinen nicht, da man sehr vorsichtig verfahren muß, um ein Überschäumen der Flüssigkeit zu verhindern und auch die Lösungen, namentlich bei Verwendung der *Kammann*schen Hefepräparate



so dunkel gefärbt sind, daß der Neutralpunkt mit Phenolphthalein sehr schwer oder gar nicht festgestellt werden kann. Eigentlich war eine so gute Übereinstimmung der Ergebnisse bei den beiden Methoden nicht zu erwarten, man mußte vielmehr annehmen, daß man bei der direkten Methode mit Lackmuspapier infolge der frei werdenden Kohlensäure zu niedrigeren Ergebnissen kommen würde, als nach dem indirekten Verfahren, bei dem die Kohlensäure durch Kochen ausgetrieben wird. Wenn dies nicht der Fall ist und die Werte ziemlich gleich gefunden werden, so dürfte das seinen Grund darin haben, daß bei Verwendung von Lackmuspapier die Kohlensäure schnell entweicht und die alkalische Reaktion so lange bestehen bleibt, solange noch Spuren von Bicarbonat vorhanden sind. Die Tüpfelmethode mit Lackmuspapier muß also, sowohl zur Neutralisation der Nährboden mit Natronlauge als auch zur nachherigen Bestimmung des Alkalitätsgrades, wenn sie richtig angewendet wird, d. h. wenn in ersterem Falle so lange Lauge zugesetzt wird, bis die Rötung des blauen Lackmuspapiers nicht nur völlig verschwunden ist, sondern das Papier anfängt, noch *blauer zu werden* und im zweiten Falle so lange Säure zugesetzt wird, bis das blaue Lackmuspapier eine *ganz schwache Rötung* aufweist, zu befriedigenden Ergebnissen führen.

Die oben beschriebenen Methoden bieten also die Möglichkeit, den Alkalitätsgrad eines Nährbodens zu bestimmen, sie geben aber keinen Aufschluß über die Art der Alkalität. Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß beim Neutralisieren, sowohl mit Lackmus als auch mit Phenolphthalein beim Vorhandensein von primären Phosphaten diese in die sekundäre Form umgewandelt werden, so daß bei beendigter Neutralisation nur sekundäre Phosphate vorhanden sein können. Wird nun Soda zum Alkalisieren der Gelatine zugesetzt, so wird ein Teil, unter Umständen kann auch die ganze Menge dazu verbraucht werden, die sekundären Phosphate in tertiäre Phosphate zu überführen. Würde der Sodazusatz hierzu nicht ausreichen, so würde die Alkalität aus tertiären Phosphaten bestehen und neben diesen noch sekundäre Phosphate im Nährboden vorhanden sein. Um hierüber Klarheit zu schaffen, war es natürlich erforderlich, den Phosphorsäuregehalt des Nährbodens festzustellen. Da die Phosphate mit den Peptonen und Extrakten in die Nährböden gelangen, so wurde zunächst in diesen die Phosphorsäure nach der Molybdänsäuremethode bestimmt und zwar in Mengen, die für 100 ccm Nährboden in Frage kommen. Die Ergebnisse, die sich auf Tab. IV befinden, zeigen, daß in den Peptonen nur geringe Mengen von Phosphorsäure — 5,28 bzw. 6,4 mg — dagegen in den Extrakten, namentlich in dem Pferdefleischwasser erhebliche Mengen — 91,04 bzw. 42,08 — gefunden wurden. Werden diese Phosphorsäuremengen in Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-Trinatriumphosphatlösung ($^{1}/_{10}$ Äqu., Gew.:



1000) umgerechnet, so kann aus den so erhaltenen Befunden wieder die Beteiligung der Phosphorsäure als tertiäres Phosphat an der Alkalität festgestellt werden. Diese betrug auf Soda umgerechnet für Pferdefleischwasser und Pepton Witte 0,07% und für Hefepepton und Hefeextrakt Kammann 0,036% Na_2CO_3. Würden die Phosphate also ganz in den fertigen Nährboden hineingelangen, so müßte bei einer angenommenen Alkalität von 0,05—0,07% Na_2CO_3 in diesem Falle bei einem Fleischwassernährboden die ganze Alkalität und bei einem Nährboden mit Hefepepton und Hefeextrakt Kammann nur ungefähr die Hälfte der Alkalität aus tertiären Phosphaten bestehen. Bei stärker alkalischen Nährböden (Choleranährböden) würde sich natürlich das Verhältnis von Phosphat und Soda zugunsten der letzteren verschieben.

Tabelle IV. Phosphorsäurebestimmungen in Peptonen und Extrakten nach der Molybdänsäuremethode.

Lfd. Nr.	Art und Menge der angewandten Substanzen	a Gefundene Mengen an P_2O_5 in mg: in Porzellanschale verascht	in Platinschale verascht	b P_2O_5-Gehalt in 100 ccm Nährboden auf [1]/10 [1]) Trinatriumphosphat umgerechnet ccm	c Alkalität des tertiären Phosphats in Soda umgerechnet %
1	Pepton Witte 1 g	5,12	5,44	0,7	0,072
		Mittel 5,28			
2	Pferdefleischwasser entspr. 100 ccm Nährboden	89,92	92,16	12,8	
		91,04			
3	Hefepepton Kammann 1 g	6,2	6,6	0,9	0,036
		6,4			
4	Hefeextrakt Kammann 1 g	41,92	42,24	5.9	
		42,08			

Die Bestimmung der Phosphorsäure nach der Molybdänsäuremethode kann wegen ihrer Umständlichkeit für laufende Untersuchungen nicht in Frage kommen. Ich versuchte daher nach einem von *J. Tillmans* und *Anna Bohrmann*[2]) für Aschen angegebenen Verfahren die Phosphorsäure, die in den Nährböden nur als Orthophosphorsäure vorhandenn sein kann, zu bestimmen. Das Verfahren beruht auf der Umsetzung der Orthophosphate mit überschüssigem Calcium nach *Pfyl*[3]) bzw. *v. Fellenberg*[4]). Wird die Alkalität in einer Flüssigkeit, in der neben Carbonaten oder Hydroxyden auch tertiäre Phosphate vorhanden sind,

[1]) 1/10 Äqu. Gewicht : 1000.

[2]) Alkalitäts- und Phosphatbestimmung in der Asche von Lebensmitteln. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **41**, 1—17. 1921.

[3]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt **47**, 1—44. 1914.

[4]) Mitteilungen aus dem Gebiete der Nahrungsmitteluntersuchungen und Hygiene. Veröffentlicht vom Schweizer Gesundheitsamt. Bern 1916, S. 81—116.



in der üblichen Weise durch Kochen mit Säure und Zurücktitrieren der überschüssigen Säure mit Lauge unter Verwendung von Phenolphthalein bestimmt, so wird die Alkalität der Phosphate mit gefunden. Setzt man dagegen nach dem Kochen mit Säure im Überschuß Calciumionen hinzu und titriert dann mit Natronlauge zurück, so wird nicht, wie im ersteren Falle, bis zum sekundären Phosphat titriert, sondern die Titration ist erst beendet, wenn das ganze sekundäre Phosphat in tertiäres Phosphat übergeführt ist, so daß also die Phosphate bei der Alkalitätsbestimmung keinen Fehler hervorrufen können. Um auf dieser Grundlage in einem Nährboden Soda neben tertiären Phosphaten oder tertiäre Phosphate neben sekundären Phosphaten festzustellen, wird die Alkalitätsbestimmung ohne Zusatz von Calciumionen ausgeführt. Ist der Neutralpunkt erreicht, so werden 30 ccm einer 40 proz. Chlorcalciumlösung zugesetzt und wieder bis zur schwachen Rötung titriert. Ist der Verbrauch an Natronlauge bei der letzten Titration kleiner, als bei der ersten, so ist in dem Nährboden Soda neben tertiären Phosphaten, ist der Verbrauch an Natronlauge bei beiden Titrationen gleich, so sind nur tertiäre Phosphate und ist der Verbrauch an Natronlauge bei der letzten Titration größer als bei der ersten, so sind neben tertiären Phosphaten noch sekundäre Phosphate vorhanden. Zunächst wurden nach diesem Verfahren Fleischwasser, Pepton Witte, sowie Hefepepton- und Hefeextrakt Kammann auf ihren Phosphorsäuregehalt untersucht. Die Substanzen wurden mit destilliertem Wasser auf ein Flüssigkeitsvolum von 200 ccm gebracht, dann wurde bis zur Vertreibung der Kohlensäure ca. 5 Minuten lang gekocht und nach dem Erkalten mit $^{n}/_{10}$-Natronlauge in Gegenwart von Phenolphthalein der Neutralpunkt hergestellt. Nach Zusatz von Chlorcalciumlösung wurde dann wieder bis zur schwachen Rötung titriert. Die zuletzt verbrauchten Kubikzentimeter Lauge mit 7,1 multipliziert, ergeben dann den Gehalt an P_2O_5 in Milligrammen. Die Ergebnisse darüber befinden sich auf Tab. V. Danach wurden gefunden auf 100 ccm Nährboden berechnet im Fleischwasser 84,5 mg und im Hefeextrakt Kammann 36,92 mg P_2O_5, dagegen nach der Molybdänsäuremethode (s. Rubrik e) 91,04 bzw. 42,08 mg. In den Peptonlösungen konnte überhaupt keine Phosphorsäure festgestellt werden, da bei Erreichung des Neutralpunktes auf Zusatz von Chlorcalciumlösung keine Entfärbung sondern eine stärkere Rötung auftrat. Dies negative Ergebnis ist wohl auf die Chlorcalciumlösung zurückzuführen, da man ja auch durch Zusatz von Kochsalz den Umschlag in Rot früher herbeiführen kann. Die kleinen Mengen an P_2O_5 — 5,28 bzw. 6,4 mg —, die nach der Molybdänsäuremethode erhalten wurden, konnten nach dem Titrationsverfahren nicht ermittelt werden. Dementsprechend wurde auch der Phosphorsäuregehalt im Fleischwasser und im Hefeextrakt Kammann etwas niedriger ge-

funden als nach der Molybdänsäuremethode. Die so erhaltenen Werte können also nur als approximative bezeichnet werden. Ein weiterer Versuch, das *Tillman*sche Verfahren auch bei fertig filtrierten Nährböden zur Anwendung zu bringen, hatte wenig Erfolg, da der Phenolphthaleinumschlag nur bei ganz hellen Nährböden beobachtet werden konnte, so daß nach dieser Richtung hin keine weiteren Versuche angestellt wurden. Als ich eine Fleischwasser-Gelatine und einen Fleischwasser-Agar, die beide mit Wittepepton hergestellt waren, nach

Tabelle V.
Phosphorsäurebestimmungen in Extrakten und Peptonen durch Titration nach Tillmans unter Benutzung von Phenolphthalein.

Lfd. Nr.	a Art und Menge der angewandten Substanz	b Verbrauch an $n/_{10}$-NaOH ccm		c Verbrauch an $n/_{10}$-NaOH nach der Neutralisation und nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung in ccm		d Berechnete Menge an P_2O_5 entspr. 100 ccm Nährboden	e P_2O_5-Gehalt entspr. 100 ccm Nährboden nach der Molybdänsäuremethode
		1. Angewandte Menge	2. Berechnet auf 100 ccm Nährboden	1. Angewandte Menge	2. Berechnet auf 100 ccm Nährboden	mg	mg
1	Fleischwasser entspr. 50 ccm Nährboden	8,4	16,8	6,0	12,0	85,2	91,04
2	Pepton Witte 0,5	1,3	2,6	Nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung stärkere Rötung	—	—	5,28
3	Hefeextrakt Kammann 0,25 g	1,3	5,2	1,3	5,2	36,92	42,08
4	Hefepepton Kammann 0,5 g	1,4	2,8	Nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung stärkere Rötung	—	—	6,4

dem *Tillman*schen Verfahren auf ihren Phosphorsäuregehalt untersuchte, wurden insofern auffällige Ergebnisse erhalten, als in der Gelatine gar keine Phosphorsäure gefunden wurde, und in dem Agar etwa die Hälfte der nach Tab. IV zu erwartenden Menge. Infolgedessen wurde die Phosphorsäure noch in einer Fleischwassergelatine und in einem Fleischwasseragar mit Pepton Witte, sowie in einer Gelatine und einem Agar mit Extrakt und Pepton Kammann nach der Molybdänsäuremethode bestimmt. Hierbei wurden die mit dem *Tillman*schen Verfahren erhaltenen Ergebnisse bestätigt, da die beiden Gelatinen einen geringen Gehalt an Phosphorsäure aufwiesen, wohingegen in den Agaren erhebliche Mengen vorhanden waren. Die Ergebnisse darüber befinden sich auf Tab. VI, auf der die den Phosphaten entsprechende Alkalität ebenfalls verzeichnet ist. Aus den Befunden geht hervor, daß durch



die Neutralisation und Filtration der Nährböden die Phosphorsäure zum Teil wieder beseitigt wird und nur solche Mengen vorhanden bleiben, die in der Gelatine einer Alkalität von 0,007—0,0095 und in den Agaren von 0,03—0,042% Na_2CO_3 gleichkommen, so daß die Phosphate in den fertigen Nährböden nicht die Rolle spielen, die man anfänglich annehmen konnte. Immerhin ist in den Agaren eine nicht unerhebliche Menge vorhanden, dementsprechend der Sodagehalt in ihnen verringert wird. Ob dadurch nun ein besseres bzw. schlechteres Wachstum der Keime hervorgerufen werden kann, darüber würde der Versuch entscheiden müssen.

Tabelle VI.

Phosphorsäurebestimmungen in filtrierter Nährgelatine und im filtrierten Nähragar nach der Molybdänsäuremethode.

Lfd. Nr.	Art und Menge der angewandten Nährböden	Gefundene Menge an P_2O_5 mg	Gefundene Menge an P_2O_5 auf 100 ccm Nährboden berechnet mg	P_2O_5-Gehalt in 100 ccm Nährboden auf $^1/_{10}$[1]) Trinatriumphosphat umgerechnet ccm	Alkalität der tertiären Phosphate auf Soda umgerechnet %
1	Pferdefleischgelatine (Pepton Witte) 25 ccm	2,56	10,24	1,4	0,007
2	Pferdefleischagar (Pepton Witte) 25 ccm	12,48	49,92	7,9	0,042
3	Extraktgelatine (Extrakt u. Pepton Kammann) 25 ccm	3,20	12,80	1,8	0,0095
4	Extraktagar (Extrakt u. Pepton Kammann) 25 ccm	9,92	39,68	5,6	0,03

In meinen obigen Ausführungen glaube ich so ziemlich die Hauptpunkte, die für die Bestimmung der Alkalität in Wässern und Nährböden in Frage kommen, besprochen zu haben. Sollten sich noch irgendwelche Lücken herausstellen, so wird vielleicht von anderer Seite dazu Stellung genommen werden. Die den obigen Ausführungen entsprechenden Ergebnisse sind noch einmal in folgenden Schlußsätzen zusammengefaßt:

1. Alkalitätsbestimmung in Wässern.

Die Alkalitätsbestimmung in Wässern auf direktem und indirektem Wege unter Verwendung von Methylorange als Indicator führt zu brauchbaren Ergebnissen. Am genauesten ist die indirekte Bestimmung nach dem Auskochen der Kohlensäure.

[1]) $^1/_{10}$ Äq. Gewicht: 1000.



Unterschiede in den Befunden beim Titrieren von Lauge in Säure und von Säure in Lauge in Gegenwart von Methylorange konnten nicht festgestellt werden. Die Empfindlichkeitsgrenze von Methylorange liegt bei $^{n}/_{100}$-Lösungen.

Bei eisenhaltigen Wässern, die gleich nach der Entnahme direkt unter Benutzung von Methylorange titriert werden, wird die an Eisen gebundene Kohlensäure mittitriert, also die Alkalität zu hoch gefunden. Die Bestimmung muß also nach dem Ausfallen des Eisens vorgenommen werden.

Humate und Silicate werden direkt und indirekt als Carbonate gefunden.

Die indirekte Bestimmung bei Verwendung von Phenolphthalein führt zu genauen Ergebnissen, wenn der Phenolphthaleintiter berücksichtigt wird und das Phenolphthalein bei der Alkalitäts- und bei der Titerbestimmung in gleich großen Mengen zugesetzt wird.

Bei eisenhaltigen Wässern wird die Alkalität richtig gefunden, ganz gleich ob das Eisen zum Teil oder ganz ausgefallen ist.

Humate beeinflussen die Alkalitätsbestimmung nicht, wohingegen Silicate als Carbonate mitgefunden werden.

Mit Azolithmin als Indicator gelangt man zu denselben Ergebnissen wie mit Phenolphthalein, das letztere verdient aber den Vorzug, weil beim Azolithmin die Mischfarben stören.

2. *Alkalitätsbestimmung in Nährböden.*

Die Neutralisation bzw. die Alkalitätsbestimmung in Nährböden geschieht am besten nach der Tüpfelmethode mit Lackmuspapier. Im ersteren Falle wird solange Natronlauge zugefügt, bis das blaue Lackmuspapier die Tendenz zeigt, *noch blauer zu werden* und im zweiten Falle soviel Säure, bis das blaue Lackmuspapier eine *sehr schwache Rötung aufweist*.

Die Phenolphthaleinmethode, bei sauren Nährböden direkt und bei den alkalischen Nährböden indirekt ausgeführt, führt zu guten Ergebnissen, ist aber nur für hellere Nährböden brauchbar.

Die Unterschiede in den beiden Methoden zueinander differieren im allgemeinen nicht mehr als um 0,01% Na_2CO_3.

Der Unterschied zwischen dem Lackmus- und Phenolphthaleinneutralpunkt wird durch Carbonate hervorgerufen, nicht durch Phosphate.

Die Bestimmung der Phosphorsäure in Peptonen, Extrakten und Nährböden geschieht am besten nach der Molybdänsäuremethode. Die von *Tillmans* für Aschen vorgeschlagene Methode führte zu unsicheren Ergebnissen und ist auch nur bei hellen Nährböden anwendbar.



Die in den Nährböden enthaltenen Phosphate werden durch die Neutralisation und Filtration der Nährböden zum Teil beseitigt. In den fertigen Gelatinen wurde der Gehalt an Phosphat auf Soda umgerechnet mit 0,007—0,0095 und in den fertigen Agaren mit 0,03—0,042 Na_2CO_3 gefunden. Danach müssen die Phosphate in den Nährböden als in tertiärer Form vorhanden angenommen werden.

Die Frage, ob die Phosphate an sich das Wachstum der Bakterien günstig beeinflussen und ob die Alkalität der tertiären Phosphate der Sodaalkalität gleichwertig ist, müßte durch Versuche festgestellt werden, wofür die Grundlagen in den obigen Ausführungen gegeben sein dürften.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel [Vorsteher: Prof. *R. Doerr*].)

Immunologische Analyse der komplexen Struktur des Serumeiweißes[1]).

Von

R. Doerr und **W. Berger.**

In einer bereits erschienenen Mitteilung[2]) haben wir über den Gehalt des Blutserums an biologisch aktivem Eiweiß berichtet. Die Titrierung erfolgte im anaphylaktischen Reihenversuch derart, daß für jede Probe Vollserum die Dosis sensibilisans minima oder die kleinste schockauslösende Menge bestimmt wurde. Der Vergleich der Werte, welche die Sera verschiedener Individuen gleicher Spezies oder die zu ververschiedenen Zeiten gewonnenen Serumproben desselben Individuums lieferten, ergab die merkwürdige und unerwartete Tatsache, daß die Intensität der Antigenfunktion des Blutserums (in der bezeichneten Weise gemessen) weder für die Spezies noch für das Individuum eine Konstante darstellt, sondern gewissen Schwankungen unterworfen ist, deren Bedingungen sich z. T. ermitteln ließen. So erwiesen sich manche pathologische Reaktionen des Organismus z. B. solche auf immunisatorische Reize als geeignet, die sensibilisierende und schockauslösende Wirkung des Blutserums erheblich zu steigern.

Der Versuch, für dieses Phänomen eine befriedigende Erklärung zu finden, bildete den Ausgangspunkt einer Kette von Fragestellungen, deren experimentelle Bearbeitung nicht nur an sich, sondern durch mehrfache Beziehungen zu anderen wichtigen Gebieten der Physiologie und allgemeinen Pathologie lohnend erschien. Obwohl nämlich die antigenen Wirkungen des „artfremden" Blutserums lediglich auf seinem Gehalt an Eiweißkörpern beruhen, bestand doch keine direkte Proportion zwischen dem prozentuellen Eiweißgehalt der untersuchten Serumproben und der Intensität ihrer Antigenfunktionen. Nach immunisatorischen Eingriffen stieg zwar mit der antigenen Kraft auch der Eiweißreichtum des Blutserums an; aber die beiden Veränderungen waren nur gleichgerichtet und unterschieden sich hinsichtlich ihrer Amplitude oft sehr beträchtlich voneinander, indem eine Zunahme der

[1]) Die Ausführung der Untersuchungen wurde durch eine Spende der freiwilligen akademischen Gesellschaft in Basel ermöglicht.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93**, 147.

Serumproteine um 25—33% von einer Exaltation des antigenen Vermögens auf das Zwanzigfache des Ausgangswertes begleitet sein konnte.

Dieses Mißverhältnis zwischen den meßbaren Zunahmen von Antigen- und Eiweißgehalt wies daraufhin, daß die Antigenfunktionen verschiedener Proben einer Serumart durch die prozentuelle Menge des Serumeiweißes nicht eindeutig bestimmt sein können, sondern daß neben diesem rein quantitativen Faktor offenbar noch ein qualitatives Moment eine große Rolle spielt: der Aufbau des Serumeiweißes aus differenten Anteilen (den verschiedenen Globulinen und Albuminen).

Damit war der Gang weiterer Untersuchungen im Prinzip gegeben. Sie hatten sich mit der Erforschung der qualitativen Zusammensetzung des Serumeiweißes zu beschäftigen, und zwar zunächst in dem Sinne einer genauen Beobachtung der tatsächlich vorkommenden Verschiebungen der gegenseitigen Mengenverhältnisse von Globulin und Albumin im Serum verschiedener Individuen der gleichen Art sowie namentlich im Serum desselben Individuums im Verlaufe bestimmter normaler und krankhafter Vorgänge. Zweitens waren die Eigenschaften speziell die Antigenfunktionen der verschiedenen Eiweißfraktionen zu ermitteln, die sich aus einem Blutserum auf physikochemischem Wege isolieren lassen. Falls hierbei — wie der ganzen Sachlage nach zu erwarten war — Differenzen zutage treten würden, so erübrigte als dritter Abschnitt des Gesamtthemas die Prüfung der Frage, wie die antigene Wirkung des Vollserums aus den Partialfunktionen der einzelnen Eiweißfraktionen resultiert, und in welcher Weise sie insbesondere durch die Änderung des Quotienten Globulin: Albumin modifiziert wird. In den beiden erstgenannten Richtungen war zur Zeit, als wir unsere Versuche begannen, bereits von mehreren Autoren vorgearbeitet worden; doch gestatteten die vorliegenden Angaben nicht den Zusammenschluß zu einer einheitlichen Auffassung, weil sie einerseits große Lücken unausgefüllt ließen, und weil sie sich andererseits in wichtigen Punkten widersprachen. Es war daher auch hier notwendig, durch eine systematische, unserem Endzweck angepaßte Prüfung der experimentellen Tatbestände die Situation zu klären.

Bei der Ausführung dieses Planes wurde vorab festgestellt[1]), daß zahlreiche krankhafte Reaktionen des Warmblüterorganismus von einer *Änderung des Gesamteiweißgehaltes des Blutserums* begleitet werden, und daß sich hiermit eine *Globulinvermehrung* und eine *gleichzeitige Albuminverminderung* vergesellschaften. In der parenteralen Zufuhr von artfremdem Eiweiß fanden wir ein Mittel, um diese Veränderungen regelmäßig auszulösen und gesetzmäßig ablaufen zu lassen; ihr genaues Studium[1]) ergab, daß auf eine erste Periode der *relativen und absoluten*

[1]) *Berger*, Schweiz. med. Wochenschr. 1922, Nr. 9 und Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **28**, 1. 1922.



Hyperglobulinämie nach 1—3 Monaten eine zweite Phase *relativer und absoluter Hyperalbuminämie* folgt, daß also der Eiweißbestand des Blutplasmas durch Immunisierungen nicht nur vorübergehend, sondern für überraschend lange Zeit tiefgreifend umgestaltet werden kann, und daß sich innerhalb dieses Intervalles die qualitative Zusammensetzung des Serumeiweißes fortwährend nach einer angebbaren Regel ändert. Die Eiweißkörper des Blutplasmas vermehren sich nämlich nach Immunisierungsreizen stets in der Reihenfolge, welche *Morawitz* schon früher beim Wiederersatz großer Blutverluste beobachtet hatte: Fibringlobulin, Serumglobulin, Albumin, also im Sinne einer zunehmenden Dispergierung und Stabilisierung der sukzessive auftretenden Proteine. Es konnte ferner gezeigt werden[1]), daß die Hypothese einer humoralen Umsetzung von Albumin in Globulin nicht geeignet ist, den ganzen Komplex der beobachteten Veränderungen zu erklären, ja daß sie nicht einmal zur Begründung der initialen Globulinvermehrung herangezogen werden kann, sondern daß es sich um celluläre Reaktionen handeln muß; die Schwankungen des Gesamteiweiß-, des Globulin- und des Albuminspiegels repräsentieren (im Experiment) nur die beobachtbaren Indicatoren der schweren Störungen des Zellstoffwechsels und namentlich des intracellulären Eiweißchemismus.

Die Untersuchungen, über deren Resultate wir an dieser Stelle berichten, betreffen die zweite Etappe des Weges, den wir zurückzulegen hatten: die Unterschiede der Antigenfunktionen der verschiedenen Proteine (Eiweißfraktionen) einer und derselben Serumart, ein Gebiet, welches durch eine neuere Arbeit von *Dale* und *Hartley*[2]) außerordentlich gefördert und der völligen Klärung weitgehend angenähert worden ist.

Ursprünglich begnügte man sich bekanntlich mit der Tatsache, daß das Eiweiß der Blutsera als Antigen wirkt, und daß es in ziemlich ausgeprägter Form die Eigenschaft der *Artspezifität* besitzt. Man sprach geradezu von Menschen-, Rinder-, Pferdeeiweiß, und schon diese Nomenklatur präjudizierte die Vorstellung, daß das Serumprotein ein für jede Tierspezies charakteristisches und einheitliches Antigen repräsentiere. Es machte sich allerdings in der Lehre von den Präcipitinen alsbald eine Gegenströmung geltend, indem einzelne Autoren (*Ide*, *Leblanc*, *Michaelis* und *Oppenheimer*, *Michaelis*, *Ascoli*, *Bertarelli*) behaupteten, man könne durch Immunisierung von Kaninchen mit den durch Aussalzen gewonnenen Eiweißfraktionen Immunsera erhalten, welche entweder als solche direkt „fraktionsspezifisch" sind, oder welche doch diese Spezifität erwerben, wenn man sie vorher in vitro mit den heterologen

[1]) *Berger*, Schweiz. med. Wochenschr. 1922. Nr. 9 und Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **28**, 1. 1922.

[2]) Biochem. journ. **10**, 408. 1916.




Fraktionen abgesättigt hat (Methode der elektiven Adsorption). In der Literatur dieser Periode findet sich so manches interessante Detail. So geben *Michaelis* und *Oppenheimer* an, daß ein Antirinderglobulinserum durch beide Globuline (Euglobulin und Pseudoglobulin) geflockt wurde, nicht aber durch Rinderalbumin, daß dagegen die Immunisierung mit Albumin ein gut wirksames Albuminpräcipitin lieferte. Ferner beschreiben *Michaelis* und *Oppenheimer* ein durch Behandlung mit Vollserum erzeugtes Präcipitin, welches mit Vollserum, Gesamtglobulin, Euglobulin und Pseudoglobulin reagierte, mit Albumin jedoch keinen Niederschlag gab. Wir werden auf einige dieser Beobachtungen anläßlich der Diskussion unserer Versuche noch zurückgreifen; zur Zeit ihrer Veröffentlichung vermochten sie nicht nachhaltig auf die immunologische Forschungsrichtung einzuwirken, und zwar aus einem doppelten Grunde. Einmal weil die de facto konstatierten Fraktionsspezifitäten eine Enttäuschung waren; sie präsentierten sich als relative (quantitative) Differenzen [wie auch *Hunter*[1]), dem wir die gründlichste Nachprüfung verdanken, einräumt], während man gehofft hatte, durch Aufdeckung absoluter (qualitativer) Spezifitäten den Nachweis für die chemische[2]) Verschiedenheit der Eiweißfraktionen führen zu können. Dann aber blieben die Befunde nicht unwidersprochen, indem manche Experimentatoren mit Albumin überhaupt keine Präcipitine zu erzeugen vermochten (*Nolf*, *Doerr* und *Russ*), während andere die Möglichkeit der Differenzierung der Fraktionen durch die Präcipitinreaktion in Abrede stellten (*Obermayer* und *Pick*, *Fuhrmann*, *Oppenheimer*, *Umber*, *Landsteiner* und *Calvo*); merkwürdigerweise legte man den negativen Ergebnissen mehr Gewicht bei als den positiven, obwohl der umgekehrte Vorgang entschieden gerechtfertigter gewesen wäre. Die Angabe von *Bauer* und *Engel*, daß gerade die Präcipitation besonders stark durch Verwandtschaftsreaktionen beeinflußt wird, während mit der Komplementbindungsmethode eine scharfe Abgrenzung des Fibrinogens vom Serumglobulin und vom Albumin durchgeführt werden kann, fand wenig Beachtung. Die Angelegenheit ruhte, bis die Neueinführung der anaphylaktischen Immunitätsreaktion Veranlassung bot, sie nochmals aufzugreifen und mit dieser Technik, der man eine besondere Empfindlichkeit zusprechen durfte, zu studieren. Den ersten Bericht hierüber erstatteten *Gay* und *Adler*; ihre Untersuchungen führten sie zu dem Schlusse, daß die Eiweißfraktionen mit abnehmender Fällbarkeit (Aussalzbarkeit durch Ammonsulfat) ein abnehmendes Sensibilisierungsvermögen und eine zunehmende schockauslösende Wirkung („Toxizität") zeigen. Der eine Pol der Aussalzungsreihe, das Euglobulin, sollte nach

[1]) Biochem. journ. **10**, 408. 1916.
[2]) Journ. of physiol. **32**, 327. 1905.



Gay und *Adler* besser präparieren als Vollserum, dagegen für das mit Vollserum präparierte Meerschweinchen völlig unschädlich sein, der andere, das erst zwischen Zweidrittel- und Ganzsättigung ausfallende Albumin, sollte die schockauslösende Wirkung des Vollserums besitzen, ohne eine nennenswerte sensibilisierende Funktion aufzuweisen. Das konnte unmöglich stimmen, vorausgesetzt, daß die Anaphylaxie den allgemeinen Gesetzen der Immunitätsreaktionen unterworfen war. Die Nachprüfung durch *Doerr* und *Russ* (1909) zeigte nun auch, daß *Gay* und *Adler* irgendeine Verwechslung unterlaufen sein mußte. Nach *Doerr* und *Russ* haftet — wie das a priori nicht anders sein kann — die sensibilisierende und die schockauslösende Wirkung am gleichen chemischen Substrat. Immerhin waren nach Erfüllung dieses Postulates noch drei Eventualitäten denkbar: 1. die immunisatorische Gleichwertigkeit der Eiweißfraktionen eines Serums, 2. mehr oder minder hochgradige Spezifitätsdifferenzen und 3. Vorhandensein der Antigenfunktionen bei einer oder mehreren Fraktionen, Fehlen derselben bei den übrigen. Alle drei Fälle hätten sich mit der Summe der bisherigen Erfahrungen vertragen. *Doerr* und *Russ* glaubten sich auf Grund ihrer Befunde für den an letzter Stelle genannten Fall entscheiden zu müssen, insofern als sie die Globuline für Sensibilisierung und Auslösung des Schocks verwenden konnten, während die Albumine in beiden Richtungen gar nicht oder nur in so verschwindendem Grade aktiv waren, daß dies aus der Unreinheit der Albuminfraktionen erklärt werden konnte. Eine Stütze für diese Ansicht bildeten die negativ verlaufenen Versuche, mit Albuminen Präcipitine oder passiv präparierende Immunsera von Kaninchen zu gewinnen, sowie der Umstand, daß die durch Vollserum erzeugten Antisera nur durch Globuline geflockt wurden und dementsprechend auch nur gegen Globulin (nicht gegen Albumin) passiv anaphylaktisch machten (vgl. hierzu *Michaelis* und *Oppenheimer*).

Trotz einer später veröffentlichten Bestätigung[1]) der von *Doerr* und *Russ* ausgeführten Experimente läßt sich aber gegen die Behauptung, daß die Serumalbumine nicht als Antigene zu wirken vermögen, die Tatsache geltend machen, daß einzelne Beobachter in früherer Zeit doch imstande waren, Präcipitine und komplementbindende Amboceptoren gegen diese Eiweißfraktionen herzustellen, die zwar nicht absolute, aber doch relative Spezifität besaßen (*Ascoli*, *Hunter* u. a.). Bedenken solcher Art mögen es gewesen sein, welche *Dale* und *Hartley* 1916 bewogen, die Eiweißfraktionen des Pferdeserums nochmals mit Hilfe der anaphylaktischen Methodik zu erproben. Wie schon früher *Uhlenhuth* schrieben auch sie die Widersprüche zwischen den Resultaten der verschiedenen

[1]) *Kato*, Tokyo Jgak Zasshi, **31**, 1. 1917 (zit. nach einem Referat).



Autoren der mangelhaften Reinheit der jeweils benutzten Eiweißpräparate zu; sie verwendeten daher für ihre Zwecke besonders reine Proteine (Euglobulin, gewonnen nach *Panums* Methode, monatelang dialysiertes „euglobulinfreies“ Pseudoglobulin und nach *Hopkins* und *Pinkus* auskrystallisiertes und dreimal unter speziellen Kautelen umkrystallisiertes Albumin). Sie stellten zunächst fest, daß Meerschweinchen, die man mit Vollserum präpariert hat, konform den Angaben von *Doerr* und *Ruß* nur auf Euglobulin und Pseudoglobulin reagieren, daß sie dagegen keine oder keine nennenswerte Hypersensibilität gegen Albumin aufweisen — aber nur unter der Voraussetzung, daß man sich genau an die Versuchsbedingungen hält, deren sich *Doerr* und *Russ* bedienten, und daß man speziell dieselbe kurze Inkubation von 14 Tagen wählt. Ließen sie aber nach der Sensibilisierung mit Vollserum 4—5 Wochen verstreichen, dann vermochte auch die Reinjektion von Albumin akuttödlichen Schock auszulösen. Darnach war das Fehlen der Antigenfunktionen des Albumins in den Versuchen von *Doerr* und *Russ* sowie von *Kato*[1]) bloß vorgetäuscht, und zwar lediglich durch die Wahl eines zu frühen Reinjektionstermins.

Da der eine von uns die Mitteilung von *H. H. Dale* und *P. Hartley* an anderer Stelle[2]) bereits ausführlich besprochen und kritisch beleuchtet hat, dürfen wir uns begnügen, die Schlußsätze, zu denen die genannten Autoren gelangten, ihrem wesentlichen Inhalt nach wiederzugeben:

1. Jedes der drei aus Pferdeserum isolierbaren Proteine: Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin, kann als anaphylaktisches Antigen wirken;

2. Ein Meerschweinchen, welches man mit einem dieser isolierten Proteine sensibilisiert hat, wird gegen dieses (homologe) Protein stärker anaphylaktisch als gegen die anderen (heterologen) Proteine. Bisweilen fallen die Reaktionen sogar streng „fraktionsspezifisch“ aus, indem Euglobulin nur gegen Euglobulin und nicht gegen Pseudoglobulin oder Albumin nur gegen Albumin, nicht aber gegen Euglobulin präpariert.

3. Die Hypersensibilität des Meerschweinchens gegen Albumin entwickelt sich später als jene gegen Globulin; diese zeitliche Differenz ist stärker markiert, wenn man mit Vollserum als wenn man mit einem der drei isolierten Proteine sensibilisiert.

Es schien uns notwendig, diese Ergebnisse nachzuprüfen und zu ergänzen, da sie nicht nur im Rahmen unseres Programmes, sondern auch von allgemeineren Gesichtspunkten beurteilt, besondere Bedeutung

---

[1]) *Kato*, Tokyo Jgak Zasshi, **31**, 1. 1917 (zit. nach einem Referat).

[2]) *Doerr*, Weichardts Ergebnisse **5**, 71. 1922.



besaßen. Was die Ergänzungen anlangt, so waren sie dadurch wünschenswert geworden, daß *Dale* und *Hartley* 1. nur mit einer Art von Präparaten und fast ausschließlich mit der *Dale*schen Technik (Prüfung der Hypersensibilität am virginalen Meerschweinchenuterus) gearbeitet und daß sie 2. die sensibilisierenden Dosen sowie die Mengen der schockauslösenden Proteine und endlich auch das Inkubationsintervall zu wenig variiert hatten. Es mußte daher daran gegangen werden, in systematischen Reihenversuchen am ganzen Tier die Dosis sensibilisans optima und minima, die kleinste schockauslösende Quantität und das optimale Intervall für jede Eiweißfraktion gesondert auszutitrieren, die Abhängigkeit der Sonderspezifität der Fraktionen von diesen Faktoren zu ermitteln und hierbei Eiweißpräparate heranzuziehen, die auf anderen als auf den von *Dale* und *Hartley* gewählten Wegen aus Vollserum hergestellt waren. Es stand zu erwarten, daß sich hieraus eine Erklärung für die auffallend lange Latenz der Albuminanaphylaxie nach parenteraler Zufuhr von Vollserum ergeben könnte. Der von *Dale* und *Hartley* mitgeteilte experimentelle Tatbestand erlaubte es, für das Zustandekommen der Verzögerung mehrere Möglichkeiten verantwortlich zu machen, und war somit keineswegs eindeutig. Wie *Doerr* auseinandersetzt, können nämlich die Beobachtungen von *Dale* und *Hartley* in folgenden Richtungen interpretiert werden:

a) Die Verzögerung ist ausschließlich oder vorwiegend durch die *Eigenart des Antigens*, also *rein qualitativ* bestimmt. Dann mußte man zwei Kategorien von Antigenen, *langfristige* und *kurzfristige*, unterscheiden, als deren Repräsentanten die Serumalbumine bzw. die Serumglobuline anzusehen wären.

b) Oder die Verzögerung ist ausschließlich oder vorwiegend durch die zur Sensibilisierung verwendete Gewichtsmenge des betreffenden Antigens, d. h. *rein quantitativ* bestimmt. Dieser Fall würde mit den Erfahrungen harmonieren, die man mit anderen unbelebten Antigenen gemacht hat. Es ist ja ein allgemein gültiges Gesetz, daß das Manifestwerden cellulärer Immunität durch Reduktion der immunisierenden Antigenquanten (bei einmaliger Vorbehandlung) hinausgeschoben werden kann, ein Gesetz, das für die Tuberkulinüberempfindlichkeit, für die antitoxische Immunität (*Löwenstein* und *Busson*) und für die Anaphylaxie (*Rosenau* und *Anderson*, *Doerr* und *Russ*, *Uhlenhuth* und *Haendel*) in gleicher Weise bestätigt werden konnte.

c) Die Verzögerung ist dadurch bedingt oder mitbedingt, daß das *Euglobulin einen kräftigeren Immunisierungsreiz* setzt als das Albumin. Dafür schien zu sprechen, daß *Dale* und *Hartley* die Verzögerung besonders nach der Präparierung mit Vollserum beobachtet hatten, wo die Latenz 4—5 Wochen betrug, während nach der Vorbehandlung mit

reinem Albumin schon nach 17 Tagen ein akut letaler Schock auslösbar war. Bei gleichzeitiger Zufuhr von Euglobulin und Albumin könnte dann — die Richtigkeit der Annahme vorausgesetzt — das Globulin dem Albumin den Rang ablaufen, und das Albumin würde dauernd oder temporär (je nach den gegenseitigen Mengenverhältnissen der einverleibten Proteine) ausgeschaltet werden. Von diesem Standpunkt aus betrachtet, würde sich der in Rede stehende verzögerte Eintritt der Albuminanaphylaxie als ein Spezialfall der „*Konkurrenz der Antigene*" darstellen, ein Ausdruck, mit dem *Benjamin* und *Witzinger* bekanntlich analoge Vorgänge bei Doppelimmunisierungen mit Pferde- und Rinderserum bezeichnet haben [vgl. auch *J. Lewis*][1]).

Die folgenden Ausführungen betreffen hauptsächlich die beiden erstaufgezählten Punkte — abgesehen vom Studium der Fraktionsspezifität und der optimalen quantitativen und zeitlichen Bedingungen, unter denen sie auftritt. Die „Konkurrenz" zwischen Globulin und Albumin (aus demselben Serum!) behandelt eine kurze Notiz in der Klinischen Wochenschrift[2]) und eine weitläufigere Mitteilung[3]) in der Biochemischen Zeitschrift.

I. Der Einfluß der Fraktionierungsmethodik auf die Nachweisbarkeit der Sonderspezifitäten von Globulin und Albumin.

Dale und *Hartley* haben die Fraktionen, mit denen sie die Sonderspezifität von Globulin und Albumin nachweisen konnten, nach einem von *Hartley* ausgearbeiteten Verfahren sehr weitgehend gereinigt und diskutieren trotzdem noch die Möglichkeit der spurweisen Beimengung anderer Fraktionen zu ihren Präparaten; sie meinen, daß solche Beimengungen die Ursache bilden könnten, warum die Uteri der mit einem bestimmten Präparat sensibilisierten Meerschweinchen zuweilen auch auf höhere Konzentrationen der anderen Fraktionen mit einer Kontraktion reagierten. Damit erscheint die Chance, das Serumeiweiß in mehrere einheitliche, „reine" Proteine zu zerlegen, recht skeptisch beurteilt, wie das bei der Natur der zu Fraktionierungszwecken verfügbaren Methoden durchaus gerechtfertigt ist.

Daß Verunreinigungen durch ungenügende Trennung und Reinigung der Fraktionen die Spezifitätsunterschiede im anaphylaktischen Experiment zu verwaschen oder auszulöschen imstande sind, muß bei der Empfindlichkeit des Meerschweinchens gegen die sensibilisierende Kraft körperfremder Proteine als selbstverständlich angesehen werden; doch bietet die Frage Interesse, wieweit die Reinigungsprozeduren zum

[1]) Journ. of infect. dis. **17**, 241. 1915.
[2]) Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 19.
[3]) Biochem. Zeitschr. 1922.



wenigsten getrieben werden müssen, damit der Spezifitätsnachweis erbracht werden kann.

In diesem Belange geht aus Versuchen, die *Stern*[1]) im Rahmen der hier wiedergegebenen Studien angestellt hat, hervor, daß Verfahren, welche mit dem Totalalbumin plus Waschwasser der Pseudoglobulinfraktion arbeiten, ohne daß eine weitere Reinigung durch Umfällen angestrebt wird, nicht ausreichen, sondern daß sie zu häufigen unspezifischen Reaktionen und außerdem zu sehr unregelmäßigen Resultaten führen.

Wir sind daher in der Folge um einen Schritt weitergegangen, indem wir die Fraktionen durch einmaliges Umfällen reinigten und beim Albumin einfach die untere, an die obere Fällungsgrenze des Pseudoglobulins unmittelbar anschließende *Grenzfraktion* entfernten. Schon diese relativ primitive Technik zeitigte den gewünschten Erfolg. Obwohl die auf solche Art gewonnenen Präparate naturgemäß nicht den von *Dale* und *Hartley* erzielten Reinheitsgrad besitzen konnten, wiesen sie doch ebenso wie die Präparate der genannten Autoren eine große relative, ja innerhalb weiter Grenzen sogar absolute *Sonderspezifität* auf, die namentlich zwischen Euglobulin und Albumin scharf markiert war. Wir sind geneigt, diesen günstigen Versuchsausfall nicht auf die (bloß einmalige) Umfällung, sondern auf die *Ausschaltung der unteren Grenzfraktion des Albumins* zu beziehen, sei es, daß die Fraktion besonders stark mit Globulinen verunreinigt ist, oder daß sie besondere intermediäre Proteine führt, die eine höhere Verwandtschaft zu den Globulinen besitzen als die schwerer fällbaren Albumine am Endpol der Aussalzungsreihe.

Im Detail gestaltete sich unser Verfahren wie folgt:

Das Eiweiß von 500—700 ccm Pferdeserum wurde mittels heiß gesättigter Ammonsulfatlösung in 4 Fraktionen zerlegt, und zwar:

1.	0—33%	Ammonsulfatsättigung	= Euglobulin-Fraktion = A
2.	33—50%	„	= Pseudoglobulin-Fraktion = B
3.	56(!)—66%	„	= Albumin = C
4.	66—99%	„	= Albumin = D.

Das Euglobulin wurde durch $^1/_3$-Sättigung des *unverdünnten Vollserums* ausgefällt. Sämtliche Niederschläge (A, B, C, D) wurden auf dem Filter oder auf der Zentrifuge mit entsprechend konzentrierter Ammonsulfatlösung gewaschen, bis das Filtrat keine Eiweißreaktion gab. Die Waschwässer wurden verworfen, um die höheren Fraktionen nicht zu verunreinigen; ebenso wurde die zwischen 50 und 56% liegende Fraktion verworfen. Die Niederschläge wurden nach mehrtägiger Dialyse gegen fließendes Wasser in einer dem ursprünglichen Serum-

[1]) Archiv f. Hygiene **91**, 165. 1922.

volum entsprechenden Menge 0,85% Kochsalzlösung aufgelöst, umgefällt, gewaschen und nun neuerdings so lange dialysiert, bis die Außenflüssigkeit mit *Nessler*schem Reagens keine Farbreaktion gab. Die Euglobulinlösungen bildeten insoferne eine Ausnahme, als sie nur 24 h gegen fließendes Wasser, dann aber gegen 12stündig gewechselte NaCl-Lösung dialysiert wurden, um eine Denaturierung durch allzulangen Kontakt mit salzfreiem Wasser zu verhüten. Schließlich wurden die Lösungen filtriert und mit NaCl-Lösung so weit aufgefüllt, daß sie 1—4% enthielten. Den Eiweißgehalt stellten wir refraktometrisch fest, nachdem Kontrollbestimmungen mit dem Kjeldahlverfahren eine gute Übereinstimmung (± 0,2%) ergeben hatten.

Die so gewonnenen Lösungen waren klar bis opalescent; die Euglobulinlösung zeigte bläulichweiße, die Pseudoglobulinlösung grünlichgelbe, die Albumin-C-Lösung dunkelbraune, die Albumin-D-Lösung strohgelbe Farbe. Die Präparate kamen wenn möglich frisch zur Verwendung oder wurden unter spärlichem $CHCl_3$-Zusatz im Eisschrank aufbewahrt, wobei sie sich meist wochenlang unverändert hielten und nur mitunter ein unbedeutendes, durch Schütteln leicht verteilbares Sediment absetzten. Bis zu 6—8 Wochen konservierten die Lösungen ihr antigenes Vermögen (gemessen an der schockauslösenden Wirkung auf gleichartig sensibilisierte Meerschweinchen) ohne Abschwächung; bei noch längerem Stehen vermochten wir aber doch ab und zu eine Abnahme der Antigenfunktion zu beobachten.

Versuch.

Zwei Meerschweinchen wurden mit je 0,78 mg Albumin C subcutan präpariert; nach 21 Tagen erhielt jedes 3,2 mg Albumin C intravenös, und zwar

Meerschweinchen 1 ein 12 Wochen altes Präparat und zeigte nur Juckreiz, sonst Null.

Meerschweinchen 2 eine 5 Wochen alte Lösung; verendete im akuten Schock innerhalb 4 Minuten.

Im ganzen führten wir die Fraktionierung im Laufe der vorliegenden Versuche bei vier Pferdeserumproben (sämtliche aus dem Schlachthause stammend) durch. Das Verfahren wurde, da es einmal gute Resultate geliefert hatte, trotz mancher Mängel beibehalten, um den Vergleichswert der bereits ausgeführten, mit großen Tieropfern verbundenen Experimente nicht zu schmälern. Wo dies möglich war, verwendeten wir innerhalb eines Versuches stets dieselben Lösungen und waren auch bestrebt, mit den nämlichen Präparaten zu sensibilisieren und zu reinjizieren. Bei sehr lange fortgeführten Versuchsserien mußte indes von diesem Prinzipe abgewichen werden, da die Abschwächung der Antigenfunktionen durch längere Aufbewahrung den Vorteil der iden-

tischen Lösungen aufgewogen und schließlich die quantitative Vergleichbarkeit der Reinjektionsdosen ganz unmöglich gemacht hätte. Wir konnten uns jedoch wiederholt überzeugen, daß es gar nicht nötig ist, mit denselben Fraktionen zu präparieren und den Schock auszulösen, sondern daß die homologen Fraktionen *verschiedener* Sera die gleichen immunologischen Eigenschaften besitzen, vorausgesetzt, daß man den prozentuellen Eiweißgehalt exakt berücksichtigt und nicht etwa ein ganz frisches und ein monatelang gelagertes Präparat miteinander vergleicht.

Diese Gleichwertigkeit der homologen Fraktionen verschiedener Sera (derselben Art) darf als Beweis für die Allgemeingültigkeit der beobachteten Spezifitäten und sonstigen Gesetzmäßigkeiten betrachtet werden.

II. Die Euglobulinanaphylaxie.

a) *Spezifität der Präparierung mit Euglobulin.*

Versuch.

Eine Serie Meerschweinchen wurde mit 0,8 mg[1]) Euglobulin subcutan sensibilisiert und mit abgestuften Mengen von Euglobulin, Albumin C und Vollserum nach 21 Tagen intravenös reinjiziert.

Reinjektion mit					
Euglobulin		Albumin C		Vollserum	
Gewicht[1]) in mg	Resultat	Gewicht in mg	Resultat	Gewicht in mg	Resultat
2,08	+ 3′	3,90	l. chron. S., üb.	3,80	+ 3′
0,59	+ 3′			**1,01**	**+ 5′**
0,26	+ 3′			0,46	s. S. üb.
0,10	**+ 5′**				
0,05	m. s. S. üb.				

Somit belief sich die kleinste letale Dosis für Euglobulin auf 0,1 mg, für Albumin C auf weit mehr als 3,9 mg, für das Gesamteiweiß des Vollserums auf 1,01 mg.

Die Sensibilisierung mit Euglobulin erzielte eine Überempfindlichkeit, die zwar *nicht ganz absolut spezifisch* war, insoferne als sich mit hohen Dosen Albumin ebenfalls leichte anaphylaktische Symptome auslösen ließen, die aber durch *beträchtliche Differenzen der tödlichen Reinjek-*

[1]) Sämtliche für die Sensibilisierung angeführten Quanten geben das in der Präparierungsdosis enthaltene *absolute* Gewicht Eiweiß in mg an; die für die Reinjektionsdosen namhaft gemachten Zahlen wurden dagegen auf 100 g Meerschweinchenlebendgewicht reduziert. + 3′ bedeutet: verendet innerhalb 3 Minuten im anaphylaktischen Schock, s. S. = schwere anaphylaktische Symptome, m. s. S. = mittelschwere, l. S. = leichte Symptome, üb. = überlebt.



tionsmenge scharf zum Ausdruck kam. Auffällig war die letale Menge Vollserumeiweiß: Sie lag zwischen der Euglobulin- und der Albumindosis und entsprach (für das benutzte Serum) 0,68 mg Totalglobulin oder 0,47 mg Euglobulin, betrug also, wenn nur der letztgenannte Anteil in Rechnung gestellt wird, noch immer ca. das Fünffache der Minimalmenge reinen Globulins. Doch möchten wir auf diesen Punkt hier nicht weiter eingehen, um so mehr, als in anderen Serien auch das entgegengesetzte Verhalten zu beobachten war und die hier behandelten Kapitel dadurch nicht unmittelbar tangiert werden.

b) Inkubationsfrist und minimale Präparierungsdosis für Euglobulin.

Der folgende Versuch sollte über die minimale Inkubationsfrist und über die Abhängigkeit der Inkubation von der Größe der Präparierungsdosis Aufschluß geben. Unter einem wollten wir auch die untere Grenze für die eben noch sensibilisierenden Euglobulinmengen bestimmen.

Präparierende Dosis Euglobulin in mg	Inkubation in Tagen	Reinjektionen mit			
		Euglobulin		Vollserum	
		Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome
8,0	9			3,60	+ 3′
8,0	13	5,10	+ 3′		
0,80	**9**			**3,90**	**+ 3′**
0,80	**9**	**1,20**	**+ 3′**		
0,80	13			3,80	+ 3′
0,80	13	0,30	+ 3′		
0,08	7			5,60	Juckreiz, sonst θ
0,08	**9**			**4,00**	**+ 3′**
0,08	9			4,00	chron. S., üb.
0,08	9			3,00	θ
0,08	13			4,00	s. S., üb.
0,08	21	4,80	+ 3′		
0,08	21	3,30	s. S., üb.		
0,08	21	1,80	s. S., üb.		
0,08	21	0,90	θ		
0,008	13			5,00	m. s. S., üb.
0,008	21	2,60	θ		
0,008	29	2,90	θ		
0,0016	21			5,00	θ
0,0016	21	2,90	θ		
0,0016	30			3,80	θ
0,0016	37	12,00	+ 3′		
0,0004	30			3,90	θ
0,0004	30	9,5	θ		
0,0004	**37**	**9,7**	**+ 3′**		



Die *Inkubationsfrist (Latenzperiode)* der durch Sensibilisierung mit reinem Euglobulin erzeugten Euglobulinanaphylaxie betrug also bei der größten angewendeten Präparierungsdosis (8 mg) im Minimum *9 Tage* und bei der kleinsten (0,0016—0,0004 mg) *37 Tage*; sie folgte somit dem für alle unbelebten Antigene gültigen Gesetz, demzufolge die Latenz der Immunität mit sinkender Antigendosis wächst. Die Zwischenwerte interpolieren sich zwischen die eben angeführten Extreme; für die Sensibilisierung mit 0,008 mg Euglobulin z. B. ließ sich eine Minimalinkubation von 21 Tagen eruieren.

Im wiedergegebenen Versuch vermochten *0,0004 mg Euglobulin* noch maximale Hypersensibilität zu erzeugen; da kleinere Dosen nicht geprüft wurden, wäre es immerhin möglich, daß die *Dosis sensibilisans minima* noch unterhalb dieses Wertes liegt. Sehr viel niedriger braucht man sie jedoch kaum anzusetzen, da die Inkubation nach der Sensibilisierung mit 0,0004 mg Euglobulin ohnehin schon bis zu jener Grenze verlängert war, über welche hinaus nach unserer Erfahrung keine weitere Steigerung mehr einzutreten pflegt. Auch stimmt der gefundene Wert gut mit den Angaben über die präparierenden Minimaldosen anderer Eiweißkörper überein, welche sich alle zwischen 0,00005 und 0,0005 mg bewegen (vgl. *Doerr*, Allergie und Anaphylaxie in *Kolle-Wassermanns* Hdb. 2. Aufl.).

Es sei weiters hervorgehoben, daß wir in den Gang der einzelnen Serien des Versuches zahlreiche Reinjektionen von Meerschweinchen mit Albuminen, und zwar sowohl mit der C- wie mit der D-Fraktion eingeschaltet haben, um zu sehen, ob die Spezifität des erzeugten anaphylaktischen Zustandes nicht etwa durch Änderung der Präparierungsdosis oder durch Variation des Reinjektionstermines gestört werden kann. In die Tabelle wurde dieser Teil der Experimente nicht aufgenommen, um die Übersichtlichkeit der Resultate zu wahren. Es mag genügen, wenn wir nur ganz summarisch anführen, daß *wir nicht ein einziges Mal eine unspezifische Reaktion mit Albumin* konstatieren konnten, weder im Bereiche der kleinen noch in jenem der hohen Präparierungsdosen. Das Intervall zwischen Sensibilisierung und Reinjektion wurde allerdings nur für die kleinen Mengen genügend abgestuft; bei den großen, 8 mg betragenden Quanten untersuchten wir das Vorhandensein einer unspezifischen Albuminüberempfindlichkeit bloß nach 9 und nach 13 Tagen, was aus noch zu erörternden Gründen nicht ausreicht. Doch erscheint diese Lücke für die Beurteilung der Spezifität des Euglobulins irrelevant; ein „Übergreifen", welches lediglich nach der Vorbehandlung mit *sehr großen* Euglobulinmengen zu beobachten wäre, müßte ohnehin auf eine Verunreinigung des Euglobulins mit Albuminspuren bezogen werden.



III. Die Albuminanaphylaxie.

a) Spezifität der Anaphylaxie nach der Präparierung mit Albumin.

1. Versuch [Präparierung mit Albumin C [1])].

Eine Reihe von Meerschweinchen wurde mit fallenden Mengen von Albumin C subcutan präpariert und nach Ablauf von 21 Tagen intravenös reinjiziert mit Euglobulin, Albumin C, Albumin D und Vollserum.

Präparierende Dosis Albumin C in mg	Reinjektionen mit							
	Euglobulin		Albumin C		Albumin D		Vollserum	
	Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome
3,90	2,1	θ						
3,90			4,1	+ 3′				
3,90			0,91	l. S.				
3,90							4,3	+ 30′
0,39	3,0	θ						
0,39			3,2	+ 5′				
0,39			0,89	+ 3′				
0,39							4,6	+ 3′
0,039	8,0	θ						
0,039			3,6	+ 3′				
0,039			1,0	+ 3′				
0,039					3,4	+ 5′		
0,039							4,0	+ 3′
0,0039			3,0	+ 3′				
0,0039			0,93	θ				
0,0039							4,46	θ

Die isolierte *Albumin-C-Fraktion* wirkte also tatsächlich als Antigen und war im Bereiche des untersuchten Dosen (0,0039 bis 3,9 mg) *absolut spezifisch* mit Euglobulin gelang es in keinem Falle, auch wenn man die achtfache Menge der akut letalen Albumin-C-Dosis intravenös injizierte, irgendwelche Symptome hervorzurufen, vielmehr war die Auslösung des Schocks nur mit Hilfe von Albumin C und Vollserum möglich.

2. Versuch [Präparierung mit Albumin D[2])].

Die Meerschweinchen wurden mit 0,8 mg D subcutan präpariert und

[1]) Ammonsulfatfällungsgrenzen 56—66%.
[2]) Ammonsulfatfällungsgrenzen 66—100%.



nach einem Intervall von 14 Tagen intravenös reinjiziert mit Euglobulin, Albumin C, Albumin D und Vollserum.

Reinjektionen mit							
Euglobulin		Albumin C		Albumin D		Vollserum	
Gew. in mg	Symptome	Gew. in mg	Symptome	Gew. in mg	Symptome	Gew. in mg	Symptome
41	+ 4′	6,9	+ 4′	13	+ 4′	7,3	s. S. üb.
30	θ	**3,45**	+ 5′	6,4	+ 4′	5,8	protr. S. üb.
13	θ	2,10	s. S. üb.	**3,5**	+ 4′	3,8	+ 10′
3	θ	1,30	θ	1,3	s. S. üb.		

Das zweite Albuminpräparat, welches dem Ende der Salzfällungsreihe entnommen war, zeigte demnach ebenfalls Antigenfunktion und war gegen das aus gleichem Serum stammende Euglobulin durch seine Sonderspezifität gut abgegrenzt; die Tiere reagierten noch auf Euglobulinmengen nicht, welche dem 10fachen Gewicht der letzten tödlichen Albumindosis gleichkamen.

Zwischen Albumin C und Albumin D ließen sich keine sehr erheblichen Differenzen nachweisen. Die letale Reinjektionsdosis war für beide Präparate ungefähr gleich hoch. Wählte man aber die subletale Reinjektionsmenge von 1,3 mg (pro 100 g Lebendgewicht), so war doch ein Unterschied zugunsten des homologen D zu erkennen, insofern als 1,3 mg D schwere Symptome, 1,3 mg C überhaupt keine Erscheinungen auslöste.

Gegen Vollserum war die Überempfindlichkeit geringer und unregelmäßiger ausgebildet als gegen die beiden Albuminfraktionen.

b) *Inkubationsfrist und minimale Präparierungsdosis für die beiden Albuminfraktionen.*

1. Versuch (Präparierung mit Albumin C).

Die Meerschweinchen wurden mit fallenden Dosen Albumin C präpariert und nach verschiedenen Intervallen mit Euglobulin, Albumin C, Albumin D oder Vollserum intravenös reinjiziert. Die nachstehende Tabelle gibt daher auch über die Spezifitätsverhältnisse Aufschluß. Um Raum zu sparen, erscheinen in dieser Tabelle (sowie in der unmittelbar vorangehenden und in den folgenden) mehrere gleichartig sensibilisierte und nach derselben Frist reinjizierte Tiere in *einer* Horizontalreihe zusammengestellt; bei den Meerschweinchen jeder Horizontalreihe variiert sonach nur Menge und Qualität der zur intravenösen Reinjektion benützten Eiweißfraktion.



Präparierende Dosis Albumin C in m	Inkubation in Tagen	Reinjektionen mit: Euglobulin		Albumin C		Albumin D		Vollserum	
		Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome	Gewicht in mg	Symptome
7,80	10	10	θ	6,8	l. S.			6,3	m. s. S.
7,80	21	2,9	θ	2,3	+ 4′	5,1	θ		
7,80	21			1,5	m. s. S.				
3,90	21	2	θ	4,1	+ 3′			4,3	+ 30′
3,90	21			0,9	l. S.				
0,78	**10**	**19**	**fast θ**	**7,2**	**+ 4′**	13	+ 2′	7,4	+ 3′
0,78	10	14	fast θ	4	s. S.	4,6	+ 20′	1,4	l. S.
0,78	10	5,6	θ	3,2	+ 4′				
0,78	10	2,3	θ	**1,5**	**+ 4′**				
0,78	10			1,2	m. s. S.				
0,078	10	15	θ	**8,7**	θ			**8,4**	θ
0,078	21	13	m. s. S.	2,5	+ 4′	6,8	+ 2^{h}		
0,078	21			**1,0**	+ 4′	**4,2**	**s. S.**		
0,078	21			0,5	s. S.				
0,0078	16							9,3	θ
0,0078	21			6,2	fast θ			11	l. S.
0,0078	28			6,8	l. S.			3,8	+ 4′
0,0078	38	11	θ	6,1	θ				

Die *Inkubationsperiode* der durch die isolierte C-Fraktion hervorgerufenen Albuminanaphylaxie konnte — wie aus der Tabelle ersichtlich — durch optimale Sensibilisierung (mit 0,78 mg C) *bis auf 10 Tage heruntergedrückt* werden; bei Verringerung der Präparierungsdosis auf 0,0078 mg erfuhr sie eine Verlängerung auf 28 Tage.

Die *kleinste noch sensibilisierende Menge* für das nach dem geschilderten Verfahren isolierte und gereinigte Albumin C betrug 0,0039 mg. Weiter nach abwärts wurde nicht ausgewertet.

Die *Spezifität* war wieder in allen Phasen des Versuches sehr ausgesprochen. Von 9 mit der C-Fraktion sensibilisierten Tieren gab nur eines eine deutliche anaphylaktische Reaktion auf Reinjektion von Euglobulin; doch war hierzu das 13fache Multiplum der letalen Albuminmenge notwendig, und selbst dann verlief der anaphylaktische Insult nicht letal, sondern zeigte nur eine mittlere Intensität. Kleinere Euglobulinquanten wurden reaktionslos vertragen; eine Erhöhung der sensibilisierenden Albuminmenge auf das 100fache (7,8 mg) änderte daran nichts.

Die *Differenz zwischen den beiden Albuminen* C und D war am 21. Tag etwas schärfer markiert als in den früher diskutierten Experimenten, wie folgender Auszug aus der Tabelle lehrt:



Präparierende Dosis C in mg	Reinjektion mit Albumin C Gewicht	Symptome	Albumin D Gewicht	Symptome
7,80	**2,3** mg	+ 4′	**5,1** mg	θ
7,80	1,5 „	m. s. S.		
0,078	**1,0** „	+ 4′	**6,8** „	+ in 2^h
0,078	**0,5** „	s. S.	**4,2** „	s. S.

2. *Versuch* (Präparierung mit Albumin D).

Präparierende Dosis Albumin D in mg	Inkubation in Tagen	Reinjektionen mit: Euglobulin Gewicht in mg	Euglobulin Symptome	Albumin C Gewicht in mg	Albumin C Symptome	Albumin D Gewicht in mg	Albumin D Symptome	Vollserum Gewicht in mg	Vollserum Symptome
8	7							6,7	θ
8	10							7,8	θ
8	14					6,8	+ 4′		
8	14					2,4	s. S.		
0,8	7					13	fast θ	8,3	θ
0,8	7							7	θ
0,8	10					13	θ	7,8	θ
0,8	14	41	+ 4′	3,45	+ 5′	3,5	+ 4′	3,8	+ 10′
0,8	14	30	θ	2,1	s. S., üb.	1,3	s.S.,üb.		
0,38	13							4,2	+ 3′
0,38	13							4,6	θ
0,38	21			3,9	+ 3′	3	+ 3′		
0,38	21			1,8	l. S.	1,6	θ		
0,38	21			0,74	θ				
0,08	7					1,3	θ		
0,08	14					12	s. S.		
0,08	14					7	s. S.		
0,08	14					3,5	s. S.		
0,08	21					7,2	+ 4′		
0,08	21					3,6	+ 4′		
0,08	21					2,9	l. S.		
0,08	28					2,6	θ		
0,08	35					5,3	+ 3′		
0,08	35					0,3	l. S.		
0,008	7					12,7	θ		
0,008	7					6	θ		
0,008	21					17,8	+ 6^h		
0,008	21					9	θ		
0,008	28					8,5	+ 16^h		
0,008	35					4,6	θ		

Die *Inkubationsperiode* der durch die Albuminfraktion D hervorgerufenen Überempfindlichkeit hing somit ebenfalls von der präparierenden Eiweißmenge ab; sie sank aber weder im Bereiche der

mittleren noch in jenem der hohen[1]) Sensibilisierungsdosen unter *13 Tage* während Euglobulin und Albumin C schon binnen 9 bezw. 10 Tagen einen die Auslösung des akut tödlichen Schocks gestattenden Grad des anaphylaktischen Zustandes provozierten. Eine Zusammenstellung der *Beziehungen zwischen Inkubation und Sensibilisierungsdosis* bietet folgendes Bild:

Präparierende Dosis in mg	Inkubationsfrist der Anaphylaxie für		
	Euglobulin	Albumin C	Albumin D
7,8—8	9 Tage	10 Tage	13—14 Tage[1])
0,78—0,8	9 „	10 „	13—14 „
0,38	—	—	13 „
0,078—0,08	9 „	10—21 „	14—21 „
0,0078—0,008	21 „	21—28 „	nach 28 Tagen nur verspäteter Exitus.
0,0039		21 „	
0,0016	37 „		
0,0004	37 „		

Die *sensibilisierende Minimaldosis der Albuminfraktion D,* welche noch die Entwickelung einer höchstgradigen Überempfindlichkeit gestattete, belief sich auf *0,08 mg.* Die nächstfolgende (zehnfach kleinere) Dosis von 0,008 mg stand jedenfalls schon an der äußersten Grenze, da die damit vorbehandelten Meerschweinchen nur auf die Reinjektion sehr großer Mengen D-Lösung reagierten, und zwar nicht mit Schock, sondern in einer sonst nicht beobachteten Art; sie boten in der ersten Zeit nach der intravenösen Einspritzung des Antigens gar kein auffallendes Verhalten dar, so daß vielfach bereits negative Ergebnisse in die Protokolle eingetragen wurden, verendeten aber unerwartet in mehreren Stunden, oft auch erst in der auf den Eingriff folgenden Nacht. Im Vergleich mit den anderen Fraktionen war die sensibilisierende *Minimaldosis des D-Proteins demnach am größten;* sie lag etwa *20 mal höher als die des Euglobulins* ($<0{,}0004$ mg) und übertraf auch noch deutlich jene der C-Albumine.

IV. Zusammenfassung.

Die immunisatorischen Differenzen der Serumeiweißkörper: Die Eiweißkörper des Blutserums bilden also in biologischer (immunologischer) Hinsicht in der Tat keine Einheit. Die richtige Erfassung der zwischen ihnen bestehenden, z. T. schon in älteren Arbeiten angegebenen Spezifitätsdifferenzen mit Hilfe des anaphylaktischen Experimentes

[1]) Die mit 8 mg D-Fraktion sensibilisierten Meerschweinchen wurden am 7. und 10. Tag nicht mit D-Lösung, sondern nur mit Vollserum reinjiziert. Nach unseren Erfahrungen ist aber diese Substitution, falls es nicht auf quantitative Messungen ankommt, zulässig; die Vollseruminjektion kann ganz gut als Indicator verwendet werden, ob überhaupt eine Anaphylaxie gegen eines der im Vollserum enthaltenen Proteine besteht oder nicht.



verdanken wir *Dale* und *Hartley*; wir konnten die Existenz dieser Differenzen bestätigen, ihre Größe in ausgedehnten Titrationsversuchen messen und die vorliegenden Kenntnisse in einigen Beziehungen ergänzen. Die Beobachtung von *Dale* und *Hartley*, daß sich die Albuminanaphylaxie in trägerem Tempo entwickelt als die Hypersensibilität gegen Euglobulin, wurde durch geeignete Variation der Versuchsbedingungen genauer untersucht; es zeigte sich, daß die antikörperproduzierenden Zellen des Meerschweinchenorganismus auf den Albuminreiz de facto langsamer ansprechen und daß dieses Phänomen durch eine optimale Art der Sensibilisierung nicht ausgelöscht werden kann. Die lange Latenzperiode der Albuminanaphylaxie beruht somit auf einer besonderen, dem Albuminantigen adhärierenden Eigenschaft, und diese Einsicht führte in weiterer Folge zur Aufstellung des Begriffes der „*biologischen Aktivität*“ oder wie man auch sagen könnte, der „*Intensität des Antigenreizes*“, einer Funktion, die nach den obigen Ausführungen nicht nur *quantitativ* (durch die Präparierungsdosis), sondern auch *qualitativ* durch die spezielle Beschaffenheit des Antigens determiniert erscheint.

Demnach läßt sich der derzeitige Stand unserer Ansichten über die Proteine des Blutserums in folgender Weise in Worte kleiden: Die mit physiko-chemischen Methoden isolierbaren *Fraktionen des Serumeiweißes weichen voneinander (als Antigene untersucht) erheblich ab*, und zwar a) durch Unterschiede der *Spezifität* und b) durch Unterschiede der *biologischen Aktivität.*

a) Spezifitätsunterschiede.

Mit isoliertem Euglobulin sensibilisierte Meerschweinchen reagieren nicht oder nur nach Anwendung excessiver Dosen *auf Albumin;* mit *Albumin präparierte Tiere werden umgekehrt gegen Euglobulin nicht hypersensibel.*

Die anaphylaktische Reaktion gestattet, *auch noch innerhalb des Albumins eine Differenzierung* vorzunehmen. Abgesehen davon, daß es wahrscheinlich gemacht wurde, daß gerade die erste Albuminfraktion (zwischen den Ammonsulfatfüllungsgrenzen 50—56%) noch das Zustandekommen einer Euglobulinanaphylaxie begünstigt, während die höheren Albuminfraktionen eine fast absolut spezifische Albuminüberempfindlichkeit hervorrufen, sensibilisiert auch die zweite Albuminfraktion C (Ammonsulfatfällungsgrenzen 56—66%) in der Regel besser gegen sich selbst als gegen die Endfraktion D (66—99%) und umgekehrt präpariert D meist besser gegen D als gegen C.

b) Aktivitätsunterschiede.

Diese prägen sich aus:

1. in der Größe der **Dosis sensibilisans minima,**



2. in der Länge der **minimalen Inkubationsfrist,** worunter das Intervall zu verstehen ist, unter welches die Latenz der Anaphylaxie durch Variation der Präparierungsdosis nicht herabgedrückt werden kann. *Beide Größen scheinen für die einzelnen Proteine des Blutserums ceteris paribus konstant, daher charakteristisch zu sein und dürfen als brauchbare Maße der biologischen Aktivität gelten. Beide Eigenschaften gehen miteinander parallel;* die Fraktion mit der niedrigsten Dosis sensibilisans minima wies auch die kürzeste minimale Inkubationsfrist auf und umgekehrt entsprach der größten Minimaldosis die längste Minimalinkubation. *Nach der biologischen Aktivität geordnet bilden daher die Eiweißfraktionen des Blutserums eine absteigende Reihe:* Euglobulin-Pseudoglobulin-Albumin C-Albumin D.

3. Aus unseren Versuchsreihen ergibt sich übrigens noch eine *dritte Art von immunologischen Unterschieden* zwischen den isolierten Eiweißfraktionen. Sensibilisiert man nämlich zwei Serien von Meerschweinchen mit gleichen und optimalen Gewichtsmengen Euglobulin und Albumin D (0,8 mg) und reinjiziert dieselben mit fallenden Dosen des homologen Proteins, so stellt sich heraus, daß man **zur Auslösung** eines akut tödlichen Schocks weit **mehr Albumin D als Euglobulin** benötigt. In dem nachstehenden mit einem Reinjektionsintervall von 14 Tagen ausgeführten Experiment verhielten sich die kleinsten letalen Reinjektionsdosen wie 35 : 1.

Versuch.

Euglobulintiere, reinjiziert mit **Euglobulin**		Albumin-D-Tiere, reinjiziert mit **Albumin D**	
2,08 mg	+ 3	13,0 mg	+ 4′
0,59 „	+ 3′	6,4 „	+ 4′
0,26 „	+ 3′	3,5 „	+ 4′
0,10 „	+ 5′	1,3 „	s. S.
0,05 „	m. s. S.		

Es fragt sich dabei nur, ob sich diese Differenzen nicht völlig ausgleichen, wenn man die Reinjektion nach einem längeren Zeitintervall ausführt; die Albuminanaphylaxie wird nicht nur später manifest als die Euglobulinüberempfindlichkeit, sie strebt auch vom Moment ihres Auftretens an langsamer dem Maximum zu. Wir können diese Frage verneinen; zahlreiche nach den verschiedensten Terminen ausgeführte Reinjektionen ergaben als kleinste akut tötende Reinjektionsmengen

für Euglobulin . . . . 0,1 mg
„ Albumin C . . . . 1,0 mg
„ Albumin D . . . . 1,9 mg

pro 100 g Meerschweinchen.

Indes ist dieses Kriterium vieldeutig. Zunächst läßt sich nicht sagen, welcher Anteil an demselben auf das Sensibilisierungsvermögen und welche Quote auf die schockauslösende Fähigkeit der untersuchten Ei-



weißkörper resp. Eiweißfraktionen entfällt, da eben eine Größe nur an der anderen meßbar ist. Dann könnte man aber auch eine absolute Verringerung der schockauslösenden Wirkung (wenn sie feststellbar wäre) nicht ohne weiteres im Sinne einer Reduktion der Intensität der Antigenfunktion deuten; der Konnex zwischen Schock und Antigenfunktion des auslösenden Proteins ist ja vorderhand noch unklar.

Gegen die vorgetragene Auffassung von der „*Pluralität der Antigene*“ im Blutserum könnte eingewendet werden, daß die verschiedenen *antigenen Fraktionen im Serumeiweiß* nicht als solche *vorgebildet* sind, sondern durch die Fällung (Einwirkung steigender Ammonsulfatkonzentrationen) erst entstehen. Dem ist entgegenzuhalten, daß es unter dieser Voraussetzung unverständlich wäre, warum man durch Präparierung mit Vollserum stets eine Überempfindlichkeit gegen jede der Fraktionen erhält und warum umgekehrt alle Fraktionen gegen Vollserum sensibilisieren, während zwischen den Fraktionen Spezifitätsunterschiede von so bedeutendem Grade zu konstatieren sind, daß sie die Differenzen mancher Proteine von verschiedener tierischer oder pflanzlicher Provenienz weit übertreffen. Dieses Argument gewinnt um so mehr an Gewicht, wenn man die Tatsache in Erwägung zieht, daß die Immunisierung von Kaninchen mit Vollserum (vom Pferde oder Rinde) in der Regel Immunsera liefert, welche in vitro (Präzipitation) wie auch in vivo (passive Anaphylaxie) nur mit Globulinen, nicht aber mit Albuminen reagieren, daß aber die Fortsetzung des Immunisierungsprojektes bei denselben Tieren dann doch noch zur Produktion des Antialbumin-Antikörpers führen kann (*Michaelis* und *Oppenheimer*, *Doerr* und *Russ*, *eigene Beobachtungen*). Daß die parenterale Zufuhr von Vollserum (vom Pferde oder Rinde) primär zur Entstehung eines reinen, mit Globulin nicht reagierenden Antialbuminserums Veranlassung gibt, haben wir bei unseren sehr umfangreichen Erfahrungen dagegen nie gesehen; es sind also *nicht nur die Spezifitäten, sondern auch die Abstufungen der biologischen Aktivität der Fraktionen im Vollserum präformiert*, da bei seiner immunisatorischen Anwendung häufig das Euglobulin über das Albumin dominiert, während sich der umgekehrte Fall offenbar nicht ereignet.

Die Situation gestaltet sich also wirklich so, daß das Blutplasma einer Tierart mindestens fünf antigene Eiweißkörper enthält (wenn man das Fibrinoglobulin nach den Komplementbindungsversuchen von *Ascoli* zu den vier differenzierbaren Fraktionen des Serums hinzurechnet), daß sich diese Proteine durch die Spezifität und die Intensität ihrer Antigenfunktionen voneinander abgrenzen lassen und daß ihre gegenseitigen Mengenverhältnisse bei verschiedenen Individuen einer Art und beim gleichen Individuum zu verschiedenen Zeiten schwanken. Die Konsequenzen, welche sich daraus für die Anwendung der Immunitäts-



reaktionen zu theoretischen und praktischen Zwecken ergeben, sind wohl klar (vgl. *Doerr, Weichardts* Ergebn. der Hyg. Bd. 5, 1922).

Was die **Beziehungen der immunologischen Differenzierung** der Serumeiweißfraktionen zu den physikalisch-chemischen **Ansichten über die Struktur des Serumeiweißes** anlangt, steht im Vordergrunde die Frage, ob man nunmehr einer Entscheidung über die *Natur* der Unterschiede zwischen den Fraktionen näher gerückt ist oder nicht. Bekanntlich werden in letzterer Hinsicht sehr zahlreiche *Hypothesen* verfochten, als deren diametral-entgegengesetzte Typen zwei Auffassungen gelten können:

1. die rein *kolloidchemische*, welche annimmt, daß zwischen den verschiedenen Proteinen bloß kolloidale Unterschiede (Verschiedenheiten des Dispersitätsgrades etc.) bestehen und daß die als „Euglobulin", „Pseudoglobulin", „Albumin" u. s. f. bezeichneten Präparate keine chemischen Individuen, sondern willkürlich gewählte Ausschnitte einer Reihe mit durchaus fließenden Übergängen sind, welche vom unstabilen Euglobulin zum stabilen Albumin führt;
2. die *strukturchemische*, welche sich das Serumeiweiß als ein *Gemenge* von mehreren, durch ihre elementare Zusammensetzung und ihre Struktur charakterisierten Eiweißsubstanzen denkt, welche vorläufig nur mangels einer geeigneten Methodik nicht genügend rein dargestellt bzw. voneinander getrennt werden können. Zwischen diesen beiden Extremen finden die übrigen, durch verschiedenartige *Kombination* aus ihnen geformten Vorstellungen Platz, als deren hauptsächlichste noch die Möglichkeit einer strukturchemischen Differenzierung mit vielen Intermediärverbindungen als Übergangsgliedern erwähnt werden soll.

Eine definitive Stellungnahme zu dieser Alternative und zu den einzelnen Vermittlungsvorschlägen ist derzeit nicht möglich; indes möchten wir mehr der an zweiter Stelle genannten Theorie zuneigen und zur Erklärung der „Übergänge" einstweilen die Existenz von Intermediärverbindungen zulassen.

Es ist ja zweifellos auffallend, daß *so viele Abstufungen der Spezifität* und der biologischen Aktivität im Eiweiß eines Serums nachweisbar sind und daß sogar noch innerhalb der Albuminfraktion eine Unterteilung gemacht werden konnte. Es erscheint weiter bedeutsam, daß diese Abstufungen in einem *fixen Verhältnis zur Ammonsulfatfällungsreihe* stehen, indem die Wertigkeit (Intensität der Antigenfunktion) der Fraktionen, gleichgültig mit welchem Maße sie gemessen wird, vom Euglobulin bis zum Albumin D stetig abnimmt und indem die Spezifitätsdifferenzen um so größer werden, je weiter die betrachteten Fraktionen in der Fällungsreihe voneinander entfernt sind.

Andererseits muß aber das *Verhältnis der Fraktionsspezifität zur Artspezifität* bei der Beurteilung der obigen Alternative herangezogen



werden. Wir haben einschlägige Untersuchungen über diesen Punkt bereits durchgeführt und werden demnächst in dieser Zeitschrift darüber berichten. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß jedes aus einem Serum (Plasma) isolierte Spezialprotein (*Euglobulin, Pseudoglobulin, Albumin) zwei Spezifitäten* nebeneinander aufweist:

1. Die *Artspezifität*;
2. die *Fraktionsspezifität*.

Man könnte sich versucht fühlen, das Verhältnis der Spezifität des Vollserums zu den innerhalb jeder Artspezifität nachweisbaren Sonderspezifitäten der einzelnen Fraktionen des Serumeiweißes kurzerhand auf ein bekanntes und ziemlich naheliegendes Beispiel zu reduzieren.

Die in zweifacher Richtung spezifischen Serumproteinfraktionen erinnern nämlich sehr an jene von *Obermayer* und *E. P. Pick* beschriebenen Fälle, wo artspezifischen Eiweißantigenen eine zweite, sog. „*Zustandsspezifität*" anhaftete. Nach den Vorstellungen dieser Autoren können Vorgänge, „welche in der Hauptsache das physikalisch-chemische Gefüge des großen (Eiweiß-)Moleküles ändern", artspezifische Eiweißantigene so beeinflussen, daß sie ihnen unter Konservierung der Artspezifität eine neue, auf die besondere Art des physikalischen Eingriffes abgestellte Spezifität aufprägen. Ein mit gekochtem Rinderserum gewonnenes Immunserum wirkt z. B. im Präzipitinversuch auch auf gekochtes Rindereiweiß ein, was ein mit nativem Rinderserum erhaltenes nicht tut. Die Artspezifität denken sich dagegen *Obermayer* und *Pick* durch die chemische Konfuguration des betreffenden Antigens bedingt.

Die Nutzanwendung auf die Serumeiweißfraktionen leuchtet wohl ein: Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin könnten neben der *chemisch fundierten Artspezifität* eine rein *physikalische Zustandsspezifität, d. h. die besondere Fraktionsspezifität* besitzen. Dem ist entgegen zu halten, daß, wie auch *E. P. Pick* hervorhebt, bei keinem der physikalischen Eingriffe, durch welche „Zustandsspezifitäten" entstehen sollen, chemische Prozesse ausgeschlossen werden können; *eine sichere Zustandsspezifität im Sinne der Definition ist bisher überhaupt nicht mit Gewißheit bekannt.* Es besteht daher kein durch die Tatsachen auferlegter Zwang, die Fraktionsspezifität, selbst wenn sie mit der Artspezifität vergesellschaftet ist, als ein Phänomen von rein physikalischem Charakter zu deuten.

Man verbleibt im Gegenteil auf weit realerem Boden, wenn man schon jetzt *chemische Grundlagen der Fraktionsspezifität* postuliert. Aus den Arbeiten von *Obermayer* und *Pick*, *Landsteiner*, *Wells*, *Osborne*, *Dakin* und *Dudley*, *Dale* und *Hartley* sowie namentlich aus den Erfahrungen über Arzneiidiosynkrasien wissen wir, daß die *Spezifität in einer heute kaum mehr übersehbaren Zahl von Fällen durch die*

chemische Struktur entscheidend beeinflußt wird, in dem Maße, daß die Differenzierung von o-, m- und p-Verbindungen durch Immunitätsreaktionen möglich wird (*Landsteiner*) oder daß die Immunitätsreaktion als Pfadfinder für die chemische Nachweisbarkeit okkulter Stereoisomerien dienen kann. Daß chemische Eingriffe *neue Spezifitäten unter Wahrung der Artspezifität* liefern können, wissen wir ebenfalls durch *Obermayer* und *E. P. Pick*, welche z. B. zeigten, daß die Diazobenzol-Rindereiweiß-Antiserum mit Diazobenzol-Rindereiweiß nicht aber mit an Diazobenzol gekuppelten Eiweißkörpern anderer Provenienz (vom Menschen, Pferd oder Kaninchen) und auch nicht mit nativem Rindereiweiß ausflockt. *Obermayer* und *Pick* nannten diesen Spezialfall „*Konstitutive Spezifität*", und es ist möglich, daß in diesem Begriff in der Folge alle sog. Zustandsspezifitäten aufgehen. *Die Spezifitätsdifferenzen der Eiweißfraktionen eines Serums wären also bis auf weiteres auf chemisch bedingte (konstitutive) Unterschiede zu beziehen.* Gestützt wird die Annahme von Chemospezifitäten durch unsere Befunde über den *Antagonismus* von Euglobulin und Albumin im Konkurrenzversuch (Biochem. Zeitschr. 1922.)

Nach den bisherigen Forschungen über Chemospezifität brauchen die strukturellen Verschiedenheiten, welche bereits bedeutende Abweichungen der Spezifität bedingen, nur sehr gering zu sein, so daß damit die Existenz mehrerer Eiweißantigene im gleichen Blutserum den befremdenden Charakter einbüßt, speziell dann, wenn man in diesen Stoffen Produkte sieht, welche von den sie elaborierenden Zellen zu verschiedenen Zeiten in verschiedenen Mengen geliefert werden (*Berger*).

Es ist nicht zu verkennen, daß der Begriff der Artspezifität durch das Vorhandensein so zahlreicher koexistierender Sonderspezifitäten mit gemeinsamer Artspezifität noch mehr an Bedeutung verloren hat, als das ohnedies schon vorher der Fall war, und daß es von dem neugewonnenen Standpunkt aus verständlicher erscheint, wenn man ab und zu auch nach parenteraler Zufuhr arteigener Proteine Antigenwirkungen beobachtet. Die Konzeption des Plasmaeiweißes als eines nach Menge und Zusammensetzung schwankenden Produktes der Gewebszellen macht die Vorstellung annehmbar, daß erkrankte oder funktionell umgestimmte Parenchyme Eiweißstoffe abstoßen, die für einen anderen normalen Organismus der gleichen Spezies einen antigenen Reiz repräsentieren. Solange man das große Eiweißmolekül" als den Träger der Antigenfunktion *und* der Spezifität betrachtete und zwischen Antigenfunktion und Spezifität einen unlösbaren Zusammenhang annahm, war natürlich die Hypothese von den rein kolloidalen Unterschieden zwischen den Eiweißfraktionen plausibler. Gegenwärtig weiß man sicher, daß die Spezifität keinesfalls von der Gesamtstruktur der Proteine dependiert, sondern oft von sehr einfachen



Atomgruppierungen und daß solche einfache Verbindungen an sich (ohne Verkettung mit Eiweiß) alle Spezifitätsphänomene aufweisen können, die man von den hochmolekularen Proteinen her kennt; der *Konnex zwischen Spezifität und Antigenfunktion erscheint damit gelockert*, indem nur für letztere das kolloidale Eiweiß Bedingung ist und als „Schiene" fungiert, auf welcher der die Spezifität des Antikörpers determinierende Atomkomplex seinen Weg zur immunisatorisch reizbaren Zelle findet.

Unter diesem Gesichtswinkel gewinnen chemische Grundlagen der Spezifitätsdifferenzen zwischen den Eiweißfraktionen des Blutserums an Boden.



(Aus dem Hygienischen Institut Leipzig [Geheimrat *Kruse*].)

Die Methämoglobinplatte.

Nebst Untersuchungen über die Veränderung der Blutplatten durch Streptokokken.

Von

Prof. **Arthur Seitz.**

Mit 1 Textabbildung.

Die Verwendung des Blutagars in der Differentialdiagnose der verschiedenen Streptokokken und Pneumokokken durch *Schottmüller* stellte eine entschiedene Bereicherung unserer bakteriologischen Hilfsmittel dar. Zwar war man schon früher auf die blutlösende Fähigkeit speziell der lange Ketten bildenden Streptokokken aufmerksam geworden, aber erst *Schottmüller* erkannte die volle Bedeutung der Hämolyse der Erythrocyten und die Möglichkeiten, die dieser biologische Vorgang in sich barg. Die Änderung der bis dahin üblichen flüssigen Blutnährböden in den festen Blutagar hat nun zwar die Differenzierung der verschiedenen Kettenkokken wesentlich erleichtert. Insonderheit gelang die Abtrennung des Streptococcus longus und des Streptococcus mitior s. viridans und den ähnlich wie letzterer sich verhaltenden Pneumokokken von den nichthämolytischen Streptokokken. Immerhin ist das Auftreten der grünlichen Verfärbung doch manchmal zögernd, und außerdem auch in manchen Fällen, wo Stämme mit geringer Wachstumsenergie und geringerem blutlösenden Vermögen vorliegen, die Abtrennung von anhämolytischen Streptokokken nicht immer leicht.

Wir gingen daher von dem Gedanken aus, die Streptokokkenvarietäten auf einem Nährboden wachsen zu lassen, welcher diese Differenzierung erleichtert, dadurch, daß eine Blutmischung zur Verwendung gelangt, welche das Hämoglobin in einer anderen Zusammensetzung enthält. Geeignet hierzu mußte das Methämoglobin sein, bekanntlich eine Oxydationsstufe des Hämoglobins mit einer Gruppierung des Sauerstoffs in nicht mehr molekularer oder abspaltbarer Bindung. Oxyhämoglobin und Methämoglobin haben nach *Hammarsten* (Physiol. Chemie, V. Aufl., S. 171) den gleichen Sauerstoffgehalt, nur, daß der Sauerstoff im Methämoglobin fester an das Hämoglobinmolekül gebunden ist als im Oxyhämoglobin. Stellt man sich eine Blutnährlösung



her, bestehend aus 3 ccm steril defibrinierten Kaninchenblutes und 5 ccm Aqua dest., bis das Blut deutlich lackfarben geworden ist, füllt diese Blutlösung in Mengen von 5 ccm in Reagensgläser unter Zusatz von 3 Tropfen Traubenzuckerbouillon und beimpft mit einem Tropfen einer 24stündigen Bouillonkultur des zu prüfenden Lanzettkokkenstammes, bebrütet bei 37°: man beobachtet dann, wie schon nach $^1/_2$ Stunde in den beimpften (schwach alkalische Reaktion zeigenden) Röhrchen die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin einsetzt, äußerlich erkenntlich an der braunen Verfärbung. Die Methämoglobinbildung nimmt nun von Stunde zu Stunde zu, bis nach etwa 6 Stunden das Maximum erreicht ist, wie man durch kontrollierende Prüfungen am Spektralapparat feststellen kann. Je nach dem zur Impfung verwandten Stamm, bei gleichbleibender Menge der eingetragenen Kultur, erfolgt der Umsatz in Methämoglobin verschieden rasch, wie schon *Grüter* bei den Pneumokokken, neuerdings auch für den Streptococcus mucosus sowie Pneumokokken Schnabel feststellte. Ähnliches fanden wir bei den Streptococcus-viridans-Varietäten. Hier setzt die Umwandlung des Blutfarbstoffs deutlich schon nach etwa 20 Minuten ein und ist nach etwa 4 Stunden abgeschlossen, wenigstens findet keine Verstärkung des spektroskopischen Bildes statt nach dieser Beobachtungszeit. Erhitzt man nun die sterile Blutlösung vor der Beimpfung einige Minuten auf 73°, so tritt nach kurzer Zeit eine Braunfärbung auf. Wie die Untersuchungen im *Kirchhoff-Bunsen*schen Spektroskop ergaben, handelt es sich um neutrales Methämoglobin. Die Untersuchungen werden am besten in der Cuvette angestellt, welche eine Beobachtung in dickerer Schicht ermöglicht als im Reagensglase. Wir stellten uns verschieden starke, auf 73° erhitzte Lösungen her von ungewaschenen Blutkörperchen vom Hammel, Kaninchen und — wenigstens für einen Teil der Verdünnungen — vom Mensch, in der Konzentration von 1,0, 2,0, 3,0 mit 5 ccm Aqua dest. lackfarben gemacht. Die braune Methämoglobinblutlösung wurde in der Menge von 5 ccm in Reagensgläser gegeben mit drei Tropfen Bouillon und einem Tropfen 24stündiger Kultur der Lanzettkokkenstämme beschickt.

Die Frage, ob es geeigneter ist, ungewaschene oder serumfreie Blutkörperchen zum hämolytischen Versuche zu nehmen, ist von *Falk* in anderem Zusammenhange behandelt worden. Nach seiner Angabe soll Serumglobulin an und für sich schon Methämoglobin bildende Eigenschaften besitzen. Kontrollen, die wir mit dem Serum der verwandten Blutarten mit Blutzusatz ohne Beimpfung vornahmen, zeigten spektroskopisch auch nach längerer Beobachtung keine Andeutung von Methämoglobin. Ebenso zeigte die Bouillon, die in einigen Tropfen jedem Reagensglas zugefügt wurde, an und für sich auch nach Tagen keine methämoglobinbildende Eigenschaft. Zur Verfügung standen 1 Strepto-

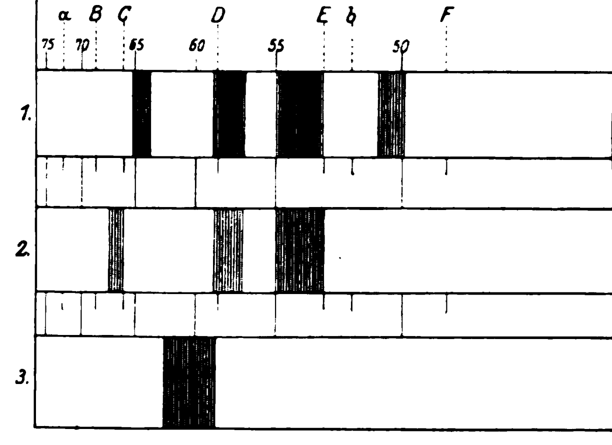


Tabelle I. Methämoglobinblutlösung.

	Streptococcus viridans						Streptococcus haemolyticus									Pneumokokkus						Strept. mucos.	Dauer der Beobachtg. bei 37°
	P. J.	823	1100	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	23	25	27	33	34	35		
Spektrum des Methämoglobins	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	24 Std.
Spektrum des Methämoglobins	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	34 Std.
Spektrum des sauren Hämatins	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	++	+	+	+	++	++	++	2 Tage

coccus-mucosus-Stamm, 6 Pneumokokkenstämme, 6 Streptococcus-viridans-Stämme und 16 Stämme hämolytischer Streptokokken, größtenteils von Scharlachkranken stammend, die ich der Liebenswürdigkeit *Schottmüllers* verdanke.

Wie aus der Tab. I hervorgeht, zeigte sich in der Methämoglobinblutlösung nach 24 Stunden keine Veränderung, bei verlängerter Beobachtung zeigten jedoch bei dieser Versuchsanordnung die Viridansstämme eine deutliche Zunahme des Methämoglobinspektrums. Offenbar war in der Methämoglobin-



1. Methämoglobin (neutral oder sauer).
2. Hämatin in saurer Lösung.
3. Hämatin in alkalischer Lösung.

lösung aus den Resten des Hämoglobins, welche jedoch spektroskopisch nicht immer deutlich nachweisbar waren, noch nachträglich durch Oxydation Methämoglobin entstanden. Diese Annahme fand eine gewisse Stütze darin, daß es in manchen Fällen gelang, zu Beginn der Beobachtung neben dem deutlichen Spektrum des Methämoglobins noch die Absorptionsstreifen des Hämoglobins nachzuweisen. Der Absorptionsstreifen in Rot, dicht an C, bei einer Wellenlänge $\lambda = 654$ bis 655 verschwand dabei, während die breiten starken — wenn auch meist etwas schwächer als der rote —

Absorptionsstreifen, zwischen D und E, bei $\lambda = 580$ resp. $\lambda = 550$ zusammenrückten zu einem sehr breiten, aber nur schattenhaften Absorptionsstreifen zwischen D und E, dicht an D, bei $\lambda = 550$ und $\lambda = 800$. Wurde die Beobachtungszeit ausgedehnt auf 2 Tage und wurde die Beobachtung in der Cuvette in dicker Schicht vorgenommen durch Parallelstellung der Cuvette zur Achse des Tubus, deutlicher noch bei Beobachtung in einem Beobachtungsrohr von 100 mm Länge, und gleichzeitig das Gesichtsfeld eingeengt durch teilweisen Verschluß der Blende des Kalimatorrohres, war in manchen Röhrchen das Spektrum des sauren Hämatins nicht zu verkennen. Der vierte schwache Streifen im Grün, bei $\lambda = 500$ des Methämoglobins, der in genügend dicker Schicht bei diesmal weit geöffneter Blende deutlich zu erkennen war, verschwand dabei, während die beiden übrigen obengekennzeichneten Absorptionsstreifen zwischen D und E weiter bestanden. Wie wir uns an einer Kontrollösung chemisch reinen Hämatins überzeugten, waren die ganzen Absorptionsstreifen des sauren Hämatins übrigens meistens schwächer als das sehr ähnliche — wenigstens in seinen Absorptionsstreifen bei C und zwischen D und E — Absorptionsstreifenbild des Methämoglobins. Immerhin ist die Beurteilung, ob wirklich Hämatin gebildet wird, dadurch erschwert, daß das Spektrum des Methämoglobins und dasjenige des sauren Hämatins sich teilweise decken können, wie *Schnabel* (l. c.) mit Recht bemerkt. Der Streifen im Rot des sauren Hämatins ist allerdings zumeist mehr der Linie B zugerückt (s. Abb.).

Wir stellten uns deshalb Methämoglobinlösungen von chemisch reinem Methämoglobin her in der Konzentration von 0,5 g auf 5 ccm einer 24stündigen Traubenzuckerbouillonkultur der Lanzettkokken der Tab. I. Die anfänglich reines Methämoglobinspektrum zeigende, amphoter bis schwach sauer reagierende Lösung machte jetzt schon nach etwa 1 Stunde langer Bebrütung bei 37° demjenigen des sauren Hämatins Platz. Daß nicht schon vor der Beimpfung etwa Hämatin in der Versuchsflüssigkeit vorhanden war, stellten wir fest durch die Reduktionsprobe mit Schwefelammonium. Dies hat die Eigenschaft, wenn man es einer Methämoglobinlösung zusetzt, im zerlegten Licht zunächst kurz das Spektrum des Oxyhämoglobins zu zeigen, bald darauf dasjenige des reduzierten Oxyhämoglobins, d. h. des Hämoglobins. Wesentlich anders verhielten sich nun die derselben Reduktionskontrolle unterworfenen beimpften, mit chemisch reinem Methämoglobin hergestellten Kulturröhrchen. Bei sämtlichen Stämmen — hauptsächlich aber bei den Viridansstämmen sehr deutlich und schon nach 10 Minuten — erschien beim Hinzufügen des Schwefelammoniums zur Methämoglobinbouillon-Kulturlösung in der Cuvette erst das Hämoglobin- und sodann das Hämochromogenspektrum. [Das Hämochromogen (*Hoppe-Seyler*) ist

im Gegensatz zum Hämatin eine Ferroverbindung und ist identisch mit dem reduzierten Hämatin.] Dieses bei dieser Versuchsanordnung nur bei Anwesenheit von Hämatin auftretende Spektrum ist mit anderen Spektren nicht zu verwechseln; es hat nur einen Absorptionsstreifen bei $\lambda = 565$ an der Grenze des Gelbgrün. Wurden diese, hämochromogenspektrumgebenden, beimpften und alkalisch reagierenden Röhrchen an der Luft lebhaft geschüttelt, so konnte durch eintretende Oxydation das Hämatinspektrum hervorgerufen werden; umgekehrt erschien nach erneutem Zusatz reduzierenden Mittels zum gleichen Röhrchen wieder das Hämochromogenspektrum. Eine weitere Eigenschaft der Hämatin enthaltenden Lösungen ist „Dichroismus" zu zeigen. Darunter versteht man bekanntlich das eigentümliche Verhalten der alkalischen Hämatinlösung, wie auch Chininlösungen u. a. m., bei auffallendem Licht in dickeren Schichten rot, bei durchgehendem Licht grünlich zu erscheinen (saures Hämatin erscheint rötlich bei auffallendem und durchgehendem Licht). Wie wir uns an einer von der Firma Merck bezogenen reinen Hämatinlösung (nach *Nencki*) überzeugen konnten, zeigen schon geringe Mengen des in alkalischen Flüssigkeiten löslichen Hämatins diesen Dichroismus, besonders im Lichte der Bogenlampe. Deutlich dichroid erwiesen sich auch die beimpften und alkalisierten Röhrchen, in denen vorher spektroskopisch Hämatin festgestellt worden war. Aber auch hier zeigten vorzugsweise die mit Viridansstämmen beimpften Methämoglobinröhrchen die Bildung des Hämatins.

Offenbar haben wir es bei der Viridansfarbstoffbildung auf der Platte, die — wenn auch graduell verschieden — offenbar allen Streptokokkenarten eigen sein kann, mit einer Mischung von neutralem Methämoglobin und Hämatin zu tun, die uns den merkwürdig grünlichschillernden Hof um die Viridanskolonie erklärt. Die Annahme von *Grüter*, daß es sich nur um ein optisches Phänomen handelt, besteht zu Recht, was ist nun aber die Ursache dieses optischen Phänomens? Die Annahme von *Schnabel*, daß es sich lediglich um Methämoglobin handelt, möchten wir dahin ergänzen, daß meist der „Viridans"farbton auf der Gegenwart von alkalischem Hämatin beruht. Dies findet eine weitere Stütze in folgendem: Verfolgt man auf der Blutplatte das Entstehen der Viridanskolonie, so kann man leicht feststellen, daß sie zunächst braun gefärbt erscheint, die Farbe des Methämoglobins. Erst später nimmt die Kolonie einen grünlichen Farbton an, wenn genügend Hämatin gebildet wurde.

Eine interessante Veränderung erhielten wir bei Herstellung eines Agars mit Zusatz von reinem Methämoglobin. Das chemisch reine Methämoglobin löst sich unschwer in Wasser unter ganz gelindem Erwärmen mit brauner Farbe. Die Platten werden mit auf etwa 42° abgekühltem 1 proz. Traubenzuckeragar und Zusatz von Methämoglobin in

1 proz. Lösung gegossen, bis der Agar einen deutlich braunen Farbton erhält. Schon nach 12 Stunden zeigte sich die beginnende grüngelbe Verfärbung, wie sie *Voges* seinerzeit von seinem Pferdekochblutagar angegeben hat, besonders schön bei Beimpfung mit Viridans- und Pneumokokkenstämmen. Charakteristisch war die weite Zone der Entfärbung und die äußerst eindeutige „milchkaffee"farbene Aufhellung mit dem grünlichen Farbenton der Ränder. Es war der Viridansfarbenton, der hier nicht in Auflagerung, sondern in breiter Diffusionszone in dem Agar auftrat.

Zur Entscheidung der Frage, wie sich auf andere Weise hergestellter Methämoglobinagar den verschiedenen Streptokokken gegenüber verhalten würde, stellten wir uns durch Erhitzen von frischem, durch Herzpunktion gewonnenem, Kaninchen- sowie Hammelblut bis zum Braunwerden eine Methämoglobinlösung her. Wichtig war dabei, die Oxyhämoglobinlösung nicht zu stark zu erhitzen. Bekanntlich entsteht, wenn man Oxyhämoglobin einige Zeit über 80° erhitzt, durch Aufnahme von Wasser und Spaltung Hämatin und der Eiweißkörper, das Globin (*Hoppe-Seyler-Thierfelder*, Handb., VIII. Aufl., S. 461). In der Folge gingen wir so vor, daß wir den auf 72—74° abgekühlten Agar kurz vor dem Gießen der Platten mit dem Blute vermischten, und zwar in verschiedener Konzentration. Erst verwandten wir Agar mit Zusatz von 7,5% Kaninchenblut oder Hammelblut, später gingen wir in der Konzentration erheblich herunter. Sämtliche Viridansstämme sowie Pneumokokken zeigten schon nach 12 Stunden eine grüngelbliche Verfärbung der Kolonien, sowie eine weit über die Kolonie hinausgehende Diffusionszone der Aufhellung. Der grünlich schillernde Rand war bei den Viridansstämmen charakteristisch. Aber auch die hämolytischen Streptokokken veränderten den Nährboden, sie riefen eine gelbliche „Milchkaffee"-verfärbung hervor, wobei der grünliche Ton der Farbenränder seltener deutlich war.

Wichtig war die Feststellung, daß *auch bei einem starken Heruntergehen in der Konzentration des Methämoglobinblutzusatzes sich die Veränderung des Nährbodens noch deutlich zeigt; ferner, daß der Methämoglobinnährboden bedeutend empfindlicher ist als Reagens auf hämolytische sowie Viridansstreptokokken und Pneumokokken als die rote Hämoglobinplatte*. Die Methämoglobinplatte zeigte, auch bei langem Aufheben, keine der durch den Blutzusatz sonst leicht unterlaufenden Verunreinigungen.

Bei einer mittleren Konzentration von 5 proz. Methämoglobinblutagar war auch das Wachstum von anderen, in ihrer Eiweißforderung an den Nährboden heiklen Bakterien, z. B. den Gonokokken, auf der braunen Platte durchaus dem Wachstum auf der ebenso konzentrierten roten Blutplatte ebenbürtig.



Folgende vergleichende Zusammenstellung gibt über das Wachstum einiger Streptokokken- und Pneumokokkenstämme auf der alten und neuen Blutplatte Aufschluß.

Tabelle II.

Stamm	Kaninchenblut 8% und Hammelblut 3%	
	„rote“ Platte (Oxyhämoglobinplatte) nach 14 Stunden	„braune“ Platte (Methämoglobinplatte) nach 10 Stunden
Vir. P. J.	schwache Hämolyse	breite Aufhellung. 1 cm breiter Streifen umrandet den Kulturstrich
Vir. 3	deutliches grünliches Wachstum ohne Hämolyse	sehr starke Aufhellung, grünliche Verf. der Ränder
Vir. 4	grünliches Wachstum	sehr starke Aufhellung
Vir. 5	grünliches Wachstum	sehr starke Aufhellung, grünliche Verf. der Ränder
Vir. 1100 . . .	schwache Entfärbung	starke Entfärb., grünl. Ränder
Haemolytic. 6	deutliche Hämolyse	sehr starke Aufhellung
Haemolytic. 7	undeutliche Hämolyse, erst nach 24 Stunden stark	sehr starke Aufhellung
Haemolytic. 8	starke Häm. erst nach 24 Std.	sehr starke Aufhellung
Haemolytic. 9	deutliche Hämolyse	sehr starke Aufhellung
Haemolytic. 13	erst nach 24 Stunden deutlich	sehr starke Aufhellung
Haemolytic. 14	erst nach 24 Stunden deutlich	starke Aufhellung
Haemolytic. 11	deutliche Hämolyse	breite Aufhellungszone
Haemolytic. 12	starke Häm. erst nach 24 Std.	breite Aufhellungszone
Haemolytic. 10	starke Häm. erst nach 24 Std.	sehr starke Aufhellung
Vir. 303	Beginnende schwache Entfärb., nach 24 Std. schwache Hämolyse und grünliche Färbung	sehr starke Entfärb. m. grünlicher Färbung
Go..	Keine Häm., gutes Wachstum, nach 24 Std. schwache Häm.	schwache Entf., nach 24 Stund. sehr deutliche Entfärbung
Ost.	keine Häm., erst nach 24 Std. schwache Häm.	Beginnende Häm., nach 24 Std. starke Entfärbung
Vir. 34	schwache Entf., grünliche Färb. erst nach 24 Stunden	deutliche Verfärb. mit grünlich. Rändern
Vir. 35	schwache Hämolyse	deutliche Verfärbung
Vir. Oppermann	schwache Hämolyse	deutliche grünliche Verfärbung
	Nach 24 Stunden	Nach 24 Stunden
Pneumokokk. 23	schwache Hämolyse, geringe grünliche Verfärbung nach 48 Stunden unverändert	deutliche Verfärbung, grünliche Färbung
Pneumokokk. 25	schwache Hämolyse	Platte in toto verfärbt
Pneumokokk. 27	schwache grünliche Färbung	Platte in toto verf., grünl. Färb.
Pneumokokk. 33	grünliche Färbung	deutl. Entfärb. mit grünl. Färb.
Pneumokokk. 34	grünliche Färbung	Platte in toto entfärbt
Pneumokokk. 35	schwache grünliche Färbung	Platte in toto entf., grünl. Färb.

Worauf beruht nun die Verfärbung der Methämoglobinhämatinplatte? Im Spektralapparat untersucht, ergab die Untersuchung des



aufgehellten hellgelbbraunen verfärbten Teils kein Spektralbild, weil eine zu starke allgemeine Trübung durch ausgefälltes Eiweiß die Beobachtung verhinderte.

In einer ersten Untersuchung lösten wir den Inhalt einer total aufgehellten bewachsenen braunen Platte (von schwach alkalischer Reaktion) in Wasser, etwas mit HCl (1 : 4) angesäuert, erhitzten und filtrierten heiß; der Filterrückstand wird in etwa 2 ccm warmem $^{n}/_{10}$-NaOH gelöst und heiß filtriert. Das Filtrat gab spektroskopisch keinen Aufschluß. Wir hatten bei der ziemlich eingreifenden Behandlung mit Säuren und Alkalien, der das Untersuchungsmaterial unterworfen worden war, Hämatin erwartet, wenn Reste von Methämoglobinblut in dem aufgehellten gelben Agar noch vorhanden gewesen wären. Offenbar war aber der Abbau bedeutend weiter gediehen. Häminkrystalle ließen sich bei Zusatz von Eisessig nicht nachweisen. Ebenso ergab keinen näheren Aufschluß der Versuch, den Inhalt einer aufgehellten braunen Platte durch langes Schütteln mit $^{n}/_{10}$-NaOH zu lösen, und die Untersuchung des Zentrifugats.

Aufschluß über die Natur der durch das Wachstum der Streptokokkenarten aufgehellten grünlichgelb verfärbten ehemals braunen Methämoglobinplatte, erhielten wir durch Anwendung einer bekannten Methode, der man sich auch früher viel bediente, um Blut in geringen Mengen als Hämatin in Blutspuren nachzuweisen. Es ist die Extraktionsmethode mit schwefelsaurem Alkohol, in den das Hämatin übergeht.

Kontrollversuche stellten wir zunächst an, ob durch die verwandte Lösung des schwefelsauren Alkohols nicht bereits eine Umwandlung des Methämoglobins in saures Hämatin stattfand. Zu dem Behufe wurde zunächst chemisch reines Methämoglobin mit 0,1% H_2SO_4 in abs. Alkohol gelöst, mehrere Stunden in der Kälte geschüttelt; stets war nur unverändertes Methämoglobin in der Lösung nachzuweisen. Dasselbe Resultat hatten wir bei Extraktion und Schütteln des unveränderten Methämoglobinnährbodens. Es wurde nun ebenso der Inhalt mehrerer total aufgehellter Platten. im Mörser zu einem Brei fein verrieben, mit der schwachen schwefelsauren Alkohollösung mehrere Stunden geschüttelt. Das Filtrat ergab, im Spektralapparat untersucht in dicker Schicht, das Spektrum des sauren Hämatins.

Es lag nahe, in diesem Zusammenhange sich die Frage vorzulegen, worauf die Aufhellung der normalen roten Oxyhämoglobinblutplatte beruht? Stellt man sich mit einem stark hämolytischem Streptokokkus eine total aufgehellte 7,5% rote Kaninchenblutplatte her, so konstatiert man, von der noch unveränderten Zone der Peripherie ausgehend, zunächst das bekannte Absorptionsbild des schwach konzentrierten Oxyhämoglobins (zwei Streifen im Grün, zwischen den Linien D und E), dann — der aufgehellten Zone zu — Methämoglobin in allmählich ab-



nehmender Konzentration, bis man endlich in der aufgehellten Zone selbst gar kein Absorptionsspektrum mehr erhält. Der Blutfarbstoff ist so in den umgebenden Nährboden diffundiert, daß er spektroskopisch nicht mehr nachzuweisen ist. Extrahiert man gleichfalls in schonender Weise die sorgfältig herausgeschnittenen Teile des aufgehellten Agars mit der schwachen sauren Alkohollösung, so erhält man das saure Hämatinspektrum. Wir haben hier also eine ganze Skala des Blutfarbstoffabbaus.

In der aufgehellten Methämoglobinhämatinplatte ist gleichfalls die Endstufe des Abbaus das Hämatin, nur daß hier, infolge einer teilweisen Koagulierung des Eiweißes, dieses das Hämatin in gebundener Form enthält, eingeschlossen in die in feiner Verteilung befindlichen Eiweißpartikel. So entsteht das physikalisch erklärliche vollkommen andere Aussehen der aufgehellten Methämoglobinhämatinplatte.

Einen weiteren Abbau scheinen die Bakterien mit dem Hämatin nicht vorzunehmen. Wenigstens veränderten sich Agarplatten, die wir mit Hämatin herstellten, nicht weiter, obwohl das Wachstum der Streptokokken ein normales war, ebenso fand keine weitere Veränderung im flüssigen Hämatinnährboden statt.

Wurde das Blut über 80° erhitzt oder gar gekocht, so erfährt es sofort eine Veränderung bis zum Hämatin; Methämoglobin steht kaum mehr zur Verfügung. So kommt es, daß diese Stufe des Abbaus vom Methämoglobin bis zum Hämatin von den Streptokokken nicht mehr geleistet werden kann und der mangelhafte Ausschlag der hämolytischen Streptokokken auf diesem Blutagar, wie auch *Bieling* bemerkt. Hinzu kommt, daß bei einem Kochen des Blutes sich äußerst derbe Gerinnsel bilden, die sich schon während des Gießens und dem folgenden Abkühlen der Gußplatte zu Boden senken, den Blutfarbstoff mit sich reißend, so daß in den oberen Schichten einer solchen Platte gar kein oder zu geringer abbaufähiger Blutfarbstoff vorhanden ist.

Literaturverzeichnis.

Voges, Berl. klin. Wochenschr. — *Falk*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **45**, 310. — *Grüter, W.*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **4**. — *Rieke, W.*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **36**. — *Bieling, R.*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **86**, Heft 4. — *Schnabel, A.*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **93**, Heft 2/3. — *Baudevin*[1]). Berl. klin. Wochenschr. **31**.

[1]) *Anmerkung bei der Korrektur:* Wie mir Geh. R. *Neufeld* mitteilt, enthält der Sitzungsbericht der Berl. mikrob. Gesellsch. vom 10. 1. 1921 in der Berl. Klin. Wochenschr. Nr. 31 eine kurze Notiz über die Demonstration durch *Baudevin* eines von *Ungermann* angegebenen Blutnährbodens (Haematinagar). Über Erfahrungen, die mit diesem Blutnährboden gemacht wurden, enthält die Notiz leider keine Angaben.



(Aus der II. Medizinischen Klinik der Charité.)

Ein Beitrag zum klinischen Verlauf des Paratyphus B.

Von

Kurt Henius.

Während nach den Untersuchungen der Kieler Schule den Typen des Para-B-Bacillus, nämlich dem *Schottmüller*schen auf der einen Seite und der *Flügge-Kaensche*schen Form Breslau im allgemeinen ein eigenartiges Krankheitsbild entspricht, und zwar der *Schottmüller*schen Form ein typhusartiger Verlauf, der Breslauform mehr das Bild des Brechdurchfalls, haben Untersuchungen im letzten Jahre z. T. hiervon abweichende Resultate ergeben. Es hat sich gezeigt, daß auch ein Breslaustamm einen ziemlich typischen Typhusverlauf veranlassen kann, während ein Para-B *Schottmüller* das Bild einer Nahrungsmittelvergiftung zu geben vermag. Im folgenden soll ein lange beobachteter Fall beschrieben werden, bei dem ein Para B *Schottmüller* zunächst unter dem Bilde eines klinischen Typhus mit einer Kontinua verlief, während danach und wahrscheinlich auch schon vorher kurzdauernde Erkrankungen mit Brechdurchfall auftraten, so daß also derselbe Erreger beide Erkrankungsformen bedingt hatte.

Am 28. X. 1919 wurde ein Laboratoriumsdiener von 33 Jahren auf die II. Medizinische Klinik aufgenommen, der sich bereits 4 Wochen krank fühlte. Er klagte über leichte Ermüdung, Kopfschmerzen und Appetitlosigkeit. Er war früher nie ernstlich krank gewesen und hatte den Krieg als Infanterist mitgemacht.

Am 31. VII. 1917 kam er aus dem Felde zurück. In den ersten Tagen in der Heimat hatte er bereits Temperaturen von 37,5—38,5° nachmittags, die auf Aspiringebrauch zurückgingen: Der Pat. arbeitete in seinem Beruf im Laboratorium ruhig weiter. Durch diese in den Nachmittagsstunden weiter bestehenden Temperaturen wurde aber die Arbeitsfähigkeit doch beeinträchtigt. Er mußte zuerst einmal wöchentlich, später alle 2—3 Wochen 1—3 Tage aussetzen. Der Stuhl war etwas angehalten. Im März 1918 hatte er Mumps. Er hatte sich von seinem Sohne, der diese Erkrankung aus der Schule heimgebracht hatte, angesteckt. Er war 3 Wochen krank und hatte als Komplikation eine doppelseitige Hodenentzündung. Mitte Juni 1918 erkrankte ein Kind des Pat. mit Durchfällen und hohem Fieber. Es war monatelang krank. — Es besteht natürlich der Verdacht einer Infektion durch den Vater. — Das Kind wurde dann wieder gesund. — Man kam schließlich auf die Vermutung, daß die Temperatursteigerung und das schlechte Befinden in Zusammenhang mit einem Steckschuß im Oberschenkel standen und entfernte im Sommer 1918 das Geschoß. Dem war aber nicht so. Im November 1919 stellte sich wieder Fieber, wie es oben geschildert war, ein.





ebenso Ostern 1919 als er in seiner Heimat in Pommern zur Erholung weilte. Das Befinden verschlechterte sich dauernd bis in den Sommer 1919. Im August 1919 war der Pat. wieder in seiner Heimat in Pommern. Er erholte sich aber auch dieses Mal dort nicht, sondern kam mit höherem Fieber bis 39° in den Nachmittagsstunden und Durchfällen von dort zurück. Er wurde dann am 28. X. 1919 in die Charité aufgenommen.

Die Untersuchung ergab einen kräftigen Mann mit etwas blasser Gesichtsfarbe. Temperatur 39°. Es bestand eine leichte ikterische Verfärbung der Haut und Scleren, der Rachen war düster gerötet, die Zunge gering weißlich belegt.

Über den Lungen waren keine Dämpfungen feststellbar, aber überall Giemen, über dem rechten Unterlappen auf der Höhe des Inspiriums feines Knacken.

Das Herz zeigte bezüglich seiner Grenzen kein Abweichen von der Norm. Der erste Ton über der Spitze war unrein. Die Pulsfrequenz war 60 P. Minute. Der Puls war deutlich dikrot. Der Blutdruck 100/140.

Der Leib zeigte leichten Meteorismus. Die Leber überragte einen Finger den Rippenbogen. Sie war nicht hart und nicht schmerzhaft.

Die Milz war deutlich ziemlich derb unter dem Rippenbogen tastbar.

Das Nervensystem zeigte keine Besonderheit.

Die Harnuntersuchung ergab kein Eiweiß, keinen Zucker, eine positive Diazoprobe, kein Bilirubin, kein Urobilinogen, keine Formelemente im Zentrifugat.

Die Blutuntersuchung ergab 5200 weiße, 4 800 000 rote Blutkörper.

Der Stuhl war dünnbreiig.

Der Pat. wurde wegen Typhusverdacht auf die Infektionsbaracken gebracht.

Hier ergab die Beobachtung eine Temperaturkurve von 37,8° in den Morgen-, 39,5° in den Abendstunden. Die Kurve hielt sich so etwa 14 Tage, um sich dann allmählich zu senken bis auf 37,4° höchste Tagestemperatur. Nach 6 Wochen hatte der Pat. nochmals einen Rückfall von etwa 10tägiger Dauer, dann überstiegen die Temperaturen nicht mehr 37°. Etwa 2 Monate nach der Krankenhausaufnahme steht der Pat. zum ersten Mal auf. Während der ganzen Beobachtungszeit war der Befund wie bei der Aufnahme. Die Milzschwellung blieb bestehen, ebenso der Diazo und die Leukopenie. Erhebliche Durchfälle bestanden nicht. *Es wurden im Stuhl sowie im Blut Paratyphus-B-Bacillen nachgewiesen. Das Serum agglutinierte Paratyphusbacillen bis* 1 : 2000. Am 13. I. 1920 wurde der Pat. als gebessert fieberfrei entlassen.

Außerhalb des Krankenhauses fühlte sich der Pat nicht sehr wohl. Er war stets matt, hatte auch öfter leichte Temperatursteigerungen. Mattigkeit und Temperatursteigerungen nahmen so zu, daß der Pat. am 23. IV. 1920 wieder die Charité aufsuchen mußte. Der Aufnahmebefund ergab nunmehr: einen Mann in mäßigem Ernährungs- und Kräftezustand, blasser Farbe der Haut und Schleimhäute.

Der Rachen ist düster gerötet, die Mandeln nicht vergrößert, die Zunge nicht belegt. Über den Lungen ist keine Schallverkürzung feststellbar. Allenthalben hört man Giemen. Die unteren Lungenränder sind gut verschieblich.

Die linke Herzgrenze reicht nach außen bis in die Medioklavikularlinie in den 5. Zwischenrippenraum rechts $1^1/_2$ Finger vom rechten Sternalrand. Der Spitzenstoß ist hebend. Die zweiten Töne über der Basis sind akzentuiert.

Der Puls ist mäßig gespannt und gefüllt. Frequenz 80 pro Minute. Der Blutdruck beträgt 80/120. Der Leib ist weich, die Leber ist $1^1/_2$ Finger unter dem Rippenbogen nicht besonders hart tastbar. Unterer Leberrand und Gallenblasengegend druckschmerzhaft. Die Milz ist mehrere Finger unter dem Rippenbogen hart tatstbar.

Am Nervensystem sind keine Veränderungen feststellbar.



Der Harn enthält 1$^0/_{00}$ Eiweiß. Er ist trüb von saurer Reaktion. Im Sediment sind massenhaft rote Blutkörper und Blutschatten.

Es ist kein Zucker vorhanden, kein Bilirubin, oder Urobilin und Urobilinogen. Die Diazoreaktion ist schwach positiv. Der Stuhl ist fest, geformt, von normaler Farbe.

Am 27. IV. fallen bei der Untersuchung die stark geröteten zerklüfteten und geschwollenen Tonsillen auf. Gleichzeitig steigt die Temperatur in den Abendstunden bis auf 39°, um in den nächsten Tagen allmählich wieder abzusinken bis auf 38° und nach 4 Wochen bis fast zur Norm.

Die Untersuchung des Blutes ergab:

rote Blutkörper	4 920 000
weiße Blutkörper	6 700
Hämoglobingehalt	98
Färbeindex 1.	

Das Blutbild war:

polymorphkernige neutrophile Leukocyten	65%
Eosinophile	1%
Mononucleäre	11%
Übergangsformen	4%
Lymphocyten	18%
Myelocyten	1%

Die Untersuchung von Blut und Stuhl ergab in beiden Paratyphus-B-Bacillen. Der Widal war für Paratyphus B 1 : 200.

Im weiteren Verlauf, der wie oben erwähnt, noch etwa 4 Wochen fieberhaft war, kam hinzu ein außerordentlich lästiger Singultus. Mit ihm gleichzeitig und abhängig von ihm stellten sich Extrasystolen ein. Gegen Ende Mai wird über der Herzspitze und über der Basis ein deutliches systolisches Geräusch hörbar. Der Pat. wird allmählich immer anämischer. Es stellen sich Ödeme an den Unterschenkeln ein. Es tritt starkes Nasenbluten auf, welches nach Verätzung der Nasenschleimhaut steht. Es tritt hinzu annähernd 3 Wochen später eine Otitis media rechtsseitig, ferner ein leichter Ascites. Der Harnbefund, der oben angegebene Befund der inneren Organe bleibt annähernd der gleiche. Die Schwäche und Anämie wird immer stärker, ebenfalls die Ödeme. Es treten, nachdem die Temperatur zeitweise normal gewesen war, immer wieder Temperatursteigerungen bis 38,3° auf. Es wechselt leichte Obstipation mit Durchfällen. Anfang August verfällt der Pat. sichtlich. Er erbricht oft. Am 9. VIII. tritt abends der Exitus ein.

Die *Obduktion* ergab: Chronisch ulceröse Colitis. Das Protokoll lautet:

Allgemeindiagnose: Chronisch rezidivierende Thromboendokarditis der Aortenklappen und Mitralis, Erweiterung des linken Ventrikels, Lungenödem, kleiner Ascites. Pulpaschwellung der Milz, embolische Herdnephritis. Eitrige Otitis media beiderseits. Starke allgemeine Anämie. Leberecchinokokkus fast eigroß (kugelrund). Cholelithiasis und chronische Cholecystitis. Milz: Atrophie, hyaline Sklerose der Arterien, Stauungshyperämie, sehr starke Pulpahämosiderose. Niere: Sehr reichlich verödete Glomeruli mit stark verdickter Kapsel, zentral periglomeruläre Infiltrate. Z. T. frische Glomerulusveränderungen. Schwellung der Glomerulusschlingen. An den Stellen reichlichen Glomerulusunterganges befinden sich reichliche Rundzelleninfiltrationen, die Harnkanälchen sind entsprechend untergegangen. Geringe Verfettung von Harnkanälchenepithelien. Sehr reichliche Hämosiderinablagerung sowohl in den Epithelien gerader Harnkanälchen wie auch im Zwischen- und perivasculären Gewebe und Herz: geringe fleckförmige Verfettung und umschriebene frische myokarditische Herde.



Die Leber zeigt ziemlich gleichmäßige Verfettung der Leberzellen.

Zahlreiche Geschwüre im Dickdarm, vereinzelt auch im Ileum. Diese Geschwüre im Darm ähnelten durchaus dysenterischen Geschwüren.

Aus dem Blut werden hämolytische Streptokokken, aus Stuhl und Urin Paratyphus-B-Bazillen gezüchtet.

Überblicken wir den Verlauf der Erkrankungen, so müssen wir zunächst 2 Stadien trennen, den vor und den nach der 2. Krankenhausaufnahme. Der letzte Teil der Erkrankung verlief unter dem Bilde einer Sepsis und wir dürfen wohl annehmen, daß die bei der Sektion aus der Milz gezüchteten hämolytischen Streptokokken die Erreger derselben gewesen sind. Daß der Para-B-Bacillus, der im Verlaufe der Erkrankung immer wieder gezüchtet worden ist, und der sich auch bei der Sektion aus Stuhl und Urin hat nachweisen lassen, als Erreger anzusehen ist, ist höchst wahrscheinlich. Eine gewisse Schwierigkeit könnte höchstens die bei der Sektion gefundenen Darmgeschwüre bereiten, die einen ruhrähnlichen Charakter trugen. Es sind jedoch derartige Geschwüre von verschiedenen Seiten und auch von mir selbst während des Krieges in Seuchenlazaretten bei sicher reinen Para-B-Infektionen wiederholt gesehen worden. In diesem Sinne spricht auch der Ausfall der *Widal*schen Reaktion, der für Paratyphus bei 1 : 160, für *Flexner* bei 1 : 40, Y 1 : 20 positiv, für *Shiga Kruse* negativ war.

Sehen wir also von dem septischen Ende der Erkrankung ab, so sehen wir einen durch Para-B-Typ *Schottmüller* verursachtes Krankheitsbild, das sich auf etwa 3 Jahre erstreckt und zu Fieberanfällen sehr unterschiedlichen Charakters geführt hat. Wir haben einmal eine annähernde Kontinua von 13 Tagen, ein andermal ein solche von 10 Tagen, dann wieder kurz dauernde Attacken von wenigen Tagen, die meist mit heftigen Durchfällen verknüpft waren. Das Charakteristische des Verlaufs scheint in der ganz ungenügenden Immunisierung gegen den Erreger zu liegen.



(Aus dem sozialhygienischen Seminar Rostock [Leiter: Prof. Dr. *Hans Reiter*].)

Kinderschicksale ehelich und unehelich Geborener[1]).

Von
Hans Reiter und **Heimbert Ihlefeld.**

So wertvoll massenstatistische Untersuchungen, die sich auf ein großes Material stützen, zur Lösung prinzipieller Fragestellungen sein können, sie werden doch nie eine Auflösung zu restlosen klaren Situationen geben, weil gerade die feinen Einzelheiten oder einzelne Erlebnisse ohne Berücksichtigung bleiben müssen. Auf der anderen Seite dämpfen — eine richtige Anlage vorausgesetzt — große Zahlen, namentlich, wenn ihre Wertigkeiten gleich sind, die Ausmaße der Fehlerquellen, aber nur im engen Rahmen der an die Massenstatistik gebundenen Möglichkeiten. Nie und nirgends wird daher die Massenstatistik die Individualstatistik ersetzen können und auch umgekehrt wird die Individualstatistik kaum die Massenstatistik entbehren lassen. Aber beide Arbeitsmethoden sind wesensverschieden, beide bewegen sich in verschiedenen Ebenen und beide können daher nur Fragen, die in verschiedenen Richtungen liegen, der Beantwortung näher bringen. Eine Masse individualstatistischer Untersuchungen wird aber oft den Vorzug der Masse und Individualstatistik vereinen können, wenn ihre Voraussetzungen gleichartig, ihre Bearbeitung gleichwertig ist.

Unter Berücksichtigung dieser Überlegung sollte versucht werden, durch Auflösen individueller „Erlebnisse" von Rostocker Kindern, die sämtlich im Jahre 1910 geboren waren, sich einen Einblick in die Ergebnisse der Aufzucht zu verschaffen, wobei besonderer Wert auf die Art der Kinder (Eheliche, Uneheliche, Legitimierte) gelegt wurde, ferner die Faktoren der Anlage und des Milieus nach Möglichkeit mit in die Rechnung gestellt werden sollten.

1907 hatte *Paul Selter* (Solingen) eine geringere Wertigkeit des unehelichen *Neugeborenen* nachgewiesen. Gleiche Ergebnisse fanden in letzter Zeit *Reiter* und seine Schüler *Walter* und *Nägler*.

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob sich in der weiteren Entwicklung dieser Kinder — im Säuglings-, Kleinkinder- und Schulkindesalter — diese geringere Wertigkeit ausgleicht, ob sie bestehen bleibt oder sich verstärkt.

---

[1]) Aus Mitteln der Stiftung Sozialhygiene Rostock.



Als Material für die Untersuchungen dienten *sämtliche* im Jahre 1910 in Rostock geborenen ehelichen und unehelichen Kinder. Der Jahrgang 1910 wurde gewählt, weil vor der Reorganisation des Rostocker Kostkinderwesens am 1. Oktober 1909 für einen großen Teil der Unehelichen weder eine behördliche noch eine ärztliche Aufsicht bestand und auch das Vormundschaftswesen noch nicht einheitlich geregelt war. Bei der Reorganisation wurde neben neuen Grundsätzen für die Arbeit des Gemeindewaisenrats eine Berufsvormundschaft geschaffen, die in besserer und wirksamerer Weise als die Einzelvormünder die Aufsicht über die Mündel ausüben konnte.

Der Überwachung durch den Gemeindewaisenrat unterliegen jetzt alle Kinder, welche *ehelich* geboren, *in einer anderen Familie als zu Hause gehalten werden, alle unehelichen Kinder, die hier geboren werden und hier bleiben* und sämtliche *Kinder beider Kategorien, die von auswärts nach Rostock kommen.* Es ist hierbei ganz gleichgültig, ob die Kinder bei Verwandten oder Fremden, ob sie gegen Entgelt oder unentgeltlich oder von der Armenordnung untergebracht sind.

Die neugeschaffene Stellung eines städtischen Kostkinderarztes gewährte die Möglichkeit in regelmäßigen Kostkindersprechstunden die Unehelichen fortlaufend ärztlich zu überwachen und die Befunde in Personalbögen einzutragen.

In langwieriger Arbeit wurden aus den Akten des Vormundschaftsgerichts, des Jugendamtes und der Berufsvormundschaft Auszüge gemacht, die einen Überblick über den Gesundheitszustand der Kinder in ihren ersten Lebensjahren gewinnen ließen. Alle in Rostock untergebrachten Kinder wurden in ihrer Behausung aufgesucht und auf den jetzigen Gesundheitszustand besichtigt. Durch Befragung der Mütter bzw. Kostmütter wurden die Akten ganz wesentlich ergänzt (z. B. körperliche und geistige Entwicklung der Kinder, Gesundheit, wirtschaftliche Lage der Eltern).

Auch die in Rostock wohnhaften ehelichen Kinder wurden aufgesucht und über sie die gleichen Ermittelungen angestellt. Der Fragebogen enthält neben Angaben über die körperliche und geistige Beschaffenheit der Kinder solche über den physischen und psychischen Gesundheitszustand der Eltern, über ihr Heiratsalter, ihr Alter bei der Geburt des Kindes, ihre Einkommenverhältnisse, evtl. auch Notizen über körperliche und geistige Erkrankungen in der Asczendenz.

Weiter wurden die Angaben ergänzt aus den Akten des Stadtschularztes und durch Lehrerurteile über Schulleistungen, Auffassungsfähigkeit, Begabung und Charakter der Kinder.

Auf diese Weise gelang es, ein sehr umfangreiches Material für die Untersuchungen zu gewinnen.



Da die Zahl derjenigen Unehelichen, die früher oder später aus Rostock verzogen, nicht unbeträchtlich war und die in Rostock Verbliebenen nur $^1/_3$ der Gesamtzahl der 1910 in Rostock geborenen Unehelichen ausmachten, wurden nach Möglichkeit auch die nach auswärts verzogenen Unehelichen unter Zuhilfenahme der Akten des Berufsvormundes verfolgt, die den weiteren Weg der Ermittelung zeigten.

Wenn der Ertrag dieser Ermittelung trotz der bis 6 maligen immer wieder aufgenommenen Anfragen nur spärlich ausfiel, so ist das ein Beweis dafür, daß die Schutzorganisation der unehelichen Kinder heute noch keineswegs eine vollendete ist.

Über die Kinder, deren jetziger Aufenthaltsort festgestellt werden konnte, wurde von den betreffenden Gemeindewaisenräten die Ausfüllung des Fragebogens erbeten. In den meisten Fällen erfolgte die Ausführung sehr sorgfältig, ein beträchtlicher Teil kam jedoch unerledigt zurück, da die Kinder inzwischen legitimiert waren. Im Falle der Auskunftsverweigerung durch die Eltern hatten die Behörden bei diesen kein Mittel, die Auskunft zu erzwingen (etwa 14%). War nur die neue Vormundschaftsbehörde bekannt, so wurde versucht, von dieser den jetzigen Wohnort der Kinder zu erfahren, was leider in 11% der Fälle nicht gelang. Die unehelichen Kinder von Ausländerinnen (meist polnischen Schnitterinnen) wurden außer Betracht gelassen, da sie nicht unter die deutschen Vormundschaftsbestimmungen fallen, also kaum zu ermitteln gewesen wären, auch die fremde Rasse das Bild verschoben hätte.

Die Gesamtgeburtenzahl im Jahre 1910 betrug in Rostock *1717* und zwar *860* Knaben und *857* Mädchen. Von diesen 1717 Geburten waren *428 unehelich* (24,9%). Von 860 Knaben waren 210 unehelich (24,4%). Von 857 Mädchen waren 218 unehelich (25,4%).

Die hohe Zahl der unehelichen Geburten im Verhältnis zu den ehelichen, die fast das dreifache der durchschnittlichen unehelichen Geburtenzahl im Deutschen Reiche beträgt, erklärt sich daraus, daß $^2/_3$ der Mütter von auswärts nach Rostock kommen, um in der Universitätsfrauenklinik oder im Hause Elim entbunden zu werden. (Diese $^2/_3$ wurden zum Teil von den Ausländerinnen gestellt, die 1910 die Zahl von 91 erreichten.)

Die ledigen Mütter. Das *Alter* von 155 Müttern, — bei den übrigen konnte es nicht ermittelt werden —, betrug zur Zeit der Entbindung:

	Alter		Zahl		Alter		Zahl
	16 Jahre	bei	1		21 Jahre	bei	16
	17 „	„	10		22 „	„	13
	18 „	„	11		23 „	„	15
	19 „	„	13		24 „	„	10
	20 „	„	22		25 „	„	10
also	**16—20** Jahre	bei	**57**	also	**21—25** Jahre	bei	**64**
	26—30 „	„	18		36—40 „	„	9
	31—35 „	„	4		41—45 „	„	3

Die verhältnismäßig größte Zahl (78%) der Mütter steht also in einem Alter unter 25. Und in dieser Gruppe befinden sich die meisten im Alter von 20 Jahren. Über 40jährige finden sich unter den unehelichen Müttern 3, sämtliche sind Witwen.

Von 126 Müttern ließ sich die *Geburtenfolge* feststellen.

84	erstgebärende	(67%),
19	zweitgebärende	(14%),
23	dritt- und mehrgebärende	(19%).

Die *Stände und Berufe* der Mütter der 337 unehelichen Kinder deutscher Abstammung verteilen sich folgendermaßen:

Ohne Beruf (Haustöchter)	23
Dienstmädchen und Köchinnen	189
Schneiderinnen und Putzmacherinnen	14
Wäscherinnen und Plätterinnen	7
Wirtschafterinnen und Stützen	35
Arbeiterinnen und Wärterinnen	54
Verkäuferinnen und Buchhalterinnen	9
Kindergärtnerinnen und Kinderfräulein	3
Pensioninhaberin	1
Tänzerin	1
Friseuse	1
	337

Die 91 Ausländerinnen, die außer diesen noch unehelich geboren haben, waren zu etwa 85% landwirtschaftliche Arbeiterinnen, der Rest Dienstmädchen.

Es ergibt sich also, daß der weitaus größte Teil der ledigen Mütter im Jahre 1910 den dienenden Ständen angehört. Analoge Ergebnisse fand *Römer* bei Untersuchung der Rostocker Kostkinder 1910/11. Während er jedoch eine außerordentlich hohe Zahl von Berufslosen aufführt, bleiben diese hier zugunsten der Dienstmädchen weit zurück. Vielleicht liegt es daran, daß er die Berufe *nach der Entbindung* registrierte, nach der sicher viele Mütter ihren Beruf aufgegeben haben, während obige Aufstellung die Berufe, in denen sich die Mädchen *vor der Entbindung* befanden berücksichtigt. (Angaben des Rostocker Standesamts.)

Legitimation: Ein Teil der Kinder wird durch spätere Heirat der Mutter, sei es nun mit dem Erzeuger oder einem anderen Manne, vor dem Schicksal der „Vaterlosigkeit“ bewahrt.

Von den 428 i. J. 1910 geborenen Unehelichen sind es 109 (25,5%),
und zwar von 210 Knaben 53 (25,24%),
von 218 Mädchen 56 (25,7%).

Diese Legitimierten leben bis auf 2 im Hause ihrer jetzigen Eltern und können bezüglich der Aufwuchsverhältnisse den ehelichen Kindern gleichgestellt werden, während sie der „angeborenen Konstitution“ nach zu den unehelichen zu rechnen sind.

Genaue Ermittlungen über die Legitimierten waren fast nur bei den in Rostock wohnhaften möglich. Die auswärts wohnenden Eltern weigerten sich in den meisten Fällen den Gemeindewaisenräten Auskunft zu geben. Mehrfach berichteten die Behörden auch zwar über den jetzigen Zustand des Kindes, aber nicht über die Eltern, da sie sich hierzu nicht für berechtigt hielten. Nur in 39 Fällen sind die Angaben über die Legitimierten derartig, daß sie als Unterlagen benutzt werden können. Es ergibt sich, daß:

20 durch Heirat der Mutter mit dem Erzeuger (= 51%),
17 durch Heirat der Mutter mit anderem Manne (= 44%),
2 durch Adoption „legitimiert" worden sind (= 5%).

Über die Unterbringung der übrigen unehelichen Kinder berichtet folgende Aufstellung:

Bei der Mutter befinden sich	22
Beim Vater befinden sich	1
Bei den Großeltern befinden sich	30
Bei fremden Kostmüttern befinden sich	25
Im Kinderheim oder Anstalten befinden sich	9
	87

Von diesen 87 Kindern, deren Fragebogen wegen der Sorgfältigkeit der Bearbeitung als Unterlagen für eingehendere Untersuchungen verwandt werden können,

wohnen in Rostock	42
in anderen Städten	17
auf dem Lande	28.

Sterblichkeit: Es ist bekannt, daß die Sterblichkeit der unehelichen Säuglinge i. A. eine weit höhere ist, als die der ehelichen. Gegen Ende des vorigen Jahrhunderts waren sie fast doppelt so hoch, im Laufe der letzten 20 Jahre ist sie dann in geringerem Maße gefallen. Man kann dies wohl zum Teil mit auf die allmählich einsetzende bessere Fürsorge zurückführen. Die Ursachen für die hohen Sterblichkeitsziffern hat man in einer ganzen Reihe Momente zu suchen.

Mit *Paul Selter* und *Reiter* eine angeborene körperliche Minderwertigkeit und geringere Widerstandsfähigkeit anzunehmen, ist man wohl in vielen Fällen berechtigt. Die *Erwerbstätigkeit* der ledigen Mütter, ihre *ungünstige Lage*, in der sie sich trotz aller sozialen Maßnahmen vor ihrer Niederkunft oft befinden, die außerordentlichen *Gemütsbewegungen* und nicht allzu selten mißglückte *Abtreibungsversuche* können kaum ohne Einfluß auf die Entwicklung des Foetus bleiben. Dazu kommt, daß die weitaus größte Mehrzahl (bei vorliegendem Material 67%) der Kinder Erstgeborene sind, die bekanntlich am häufigsten unter Geburtsschädigungen zu leiden haben. Es ist daher nicht auffällig, wenn tatsächlich eine *größere Widerstandslosigkeit der*

unehelichen Neugeborenen besteht. Auch die weiteren *Aufzuchtsverhältnisse* sind für uneheliche Säuglinge besonders ungünstig, da sie nur in vereinzelten Fällen ihrer natürlichen Ernährung, der Muttermilch, teilhaftig werden und sehr häufig auch die mütterliche Pflege entbehren müssen.

In der folgenden Tabelle erfolgt eine Nebeneinanderstellung der Sterblichkeit der ehelichen und unehelichen Säuglinge des Jahrganges 1910.

Tabelle I.

Von 961[1]) Rostocker *Ehelichen* beiderlei Geschlechts starben 143 (14,88%).
Von 489 Rostocker ehelichen Knaben starben 75 (15,33%).
Von 472 ehelichen Rostocker Mädchen starben 68 (14,41%).
Von 337 Rostocker *Unehelichen* beiderlei Geschlechts starben 85 (25,22%).
Von 170 Rostocker unehelichen Knaben starben 36 (21,11%).
Von 177 Rostocker unehelichen Mädchen starben 49 (27,76%).

Die Sterblichkeit von 14,88% ehelichen und 25,22% unehelichen Kindern stimmt fast genau mit der im Deutschen Reiche überein, die 1910 15,2% eheliche und 25,7% uneheliche betrug. Ein gleiches Verhalten der Rostocker Sterblichkeitsziffern stellten *Brüning* und *Saul* auch für die Jahre 1901 bis 1905 fest.

Bekanntlich ist die Sterblichkeit der Knaben eine höhere als die der Mädchen. Während dies Gesetz bei den verstorbenen *ehelichen* Säuglingen auch zum Ausdruck kommt, findet sich sonderbarerweise bei den *unehelichen* sowohl relativ wie auch absolut eine viel höhere Sterblichkeit der Mädchen.

Bei Beurteilung der geistigen und körperlichen Entwicklung Ehelicher und Unehelicher muß die höhere Säuglingssterblichkeit der Unehelichen berücksichtigt werden. Durch das Fortsterben der minderwertigen Individuen Unehelicher müßten eigentlich die übriggebliebenen ein verhältnismäßig besseres Material darstellen.

---

[1]) Die Zahl 961 kommt dadurch zustande, daß von der Gesamtzahl der im Jahre 1910 in Rostock geborenen *Ehelichen* diejenigen abgezogen wurden, deren Mütter von auswärts in eine der Rostocker Kliniken zur Entbindung gekommen waren (19), oder deren Eltern in den ersten Lebensjahren der Kinder von Rostock fortzogen (309).

Die Verteilung der Eltern dieser 309 Kinder auf die verschiedenen Berufsklassen zeigt folgendes Bild:

Beruf	Zahl
Arbeiter	178 (57,61%),
Handwerker	49 (15,87%),
untere und mittlere Beamte	25 (8,09%),
Landleute	2 (0,65%),
Kaufleute	26 (8,41%),
Akademiker	8 (2,59%),
höhere Beamte und Offiziere	10 (3,24%),
übrige Berufe	11 (3.54%),



Die *Beteiligung einzelner Krankheiten an den Todesursachen* zeigt folgende Zusammenstellung, der eine Einteilung *Brünings* in seiner Schrift über „die Säuglingssterblichkeit im Großherzogtum Mecklenburg-Schwerin, ihre Ursache und Bekämpfung" zugrunde gelegt und an die Seite gestellt ist.

Tabelle II.

Es starben an:	Ehelich %	Unehelich %	Brüning %
Krankheiten der Verdauungsorgane	42	**53**	**48**
Krankheiten der Atmungsorgane	16,8	**13**	**17**
Lebensschwäche und Geburtsschädigung	23	**16**	**23**
Nervenkrankheiten	9,8	**5,9**	**2,8**
Infektionskrankheiten	5,0	**8,1**	**5,6**
Varia	3,4	**4,0**	**3,9**

Annähernd decken sich die Werte mit denen *Brünings*. Die *Ernährungsstörung* als Todesursache für die Unehelichen ist auffallend häufig, so daß man hieraus auf ungünstigerere Ernährungsverhältnisse und weniger sorgfältige Pflege Schlüsse ziehen darf. Sonderbar ist, daß *Lebensschwäche* und *Geburtsschädigungen* bei den Unehelichen weniger zahlreich sind, man hatte, der geringeren Widerstandsfähigkeit des unehelichen Neugeborenen entsprechend, das Gegenteil erwartet.

Stilldauer: Aus Untersuchungen von *Brüning* und *Praetorius* über die Häufigkeit des Stillens in Rostock hatte sich 1908 ergeben, daß $^2/_5$ aller unehelich Neugeborenen in den ersten Lebenstagen Brustnahrung erhielten. Diese verhältnismäßig hohe Zahl erklärt sich daraus, daß die in Kliniken und Heimen entbundenen Mädchen dort zum Stillen angehalten werden, verlassen sie aber die Anstalt und gehen wieder in einen Beruf, werden die Kinder abgesetzt und in Pflege gegeben, so daß eine längere Stilldauer kaum erreicht wird.

Die Bezeichnung der Stilldauer geschah in folgender Form:

Nicht ausreichende Stilldauer: über eine Woche bis 3 Monate,
Ausreichende Stilldauer: über 3 Monate,
Volle Stilldauer: über 9 Monate.

Stilldauer bis zu einer Woche wurde als „nicht gestillt" bezeichnet.

In allen folgenden Tabellen ist eine Einteilung der Kinder in sechs Gruppen vorgesehen. Unter *unehelichen Kindern* sind nur diejenigen verstanden, die *noch jetzt juristisch als unehelich* anzusehen sind, die *Legitimierten* sind in einer besonderen Gruppe aufgeführt.

Gruppe 1: Uneheliche in Rostock.

Gruppe 2: Auswärts wohnende Uneheliche.

Gruppe 3: Legitimierte, unehelich Geborene.

Gruppe 4: Eheliche, deren Eltern vor dem Kriege ein Einkommen unter 2000 Mark hatten. (Jetzt [1]) unter 20 000 Mark.)

[1]) Januar 1922.



Gruppe 5: Eheliche, deren Eltern ein Einkommen zwischen 2000 bis 3000 Mark hatten. (Jetzt[1]) 20000 bis 30000 Mark.)

Gruppe 6: Eheliche, deren Eltern ein Einkommen über 3000 Mark hatten. (Jetzt[1]) über 30 000 Mark.)

Die wirtschaftliche Lage der *Unehelichen* und *Legitimierten* entspricht bei über 95% der Gruppe 4.

Tabelle III. (Gesamtzahl der Kinder.)

Gruppe	Zahl	Nicht gestillt		Nicht ausreich. gest.		Ausreichend gestillt		Voll gestillt	
		Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %
1	42	68	65	22	25	10	10	—	—
2	45	68	60	28	35	4	5	—	—
3	39	56	65	44	26	—	4,5	—	4,5
4	598	34	35	28	23	20	24	18	18
5	57	40	44	22	32	22	12	16	12
6	72	37,5	32,5	34	20	22	37,5	6,5	10

Es zeigt sich deutlich, daß die Unehelichen und auch die Legitimierten gegenüber den Ehelichen bezüglich des Stillens stark benachteiligt sind. Voll gestillt ist von den unehelichen Säuglingen kein einziger, über 3 Monate von den in Rostock wohnenden nur 10%, von den auswärtigen sogar nur 4% bzw. 5%, obgleich man doch annehmen sollte, daß das Stillen auf dem Lande verbreiteter ist, als in der Stadt. Über $^2/_3$ der unehelichen Säuglinge erscheinen also ausschließlich auf Flaschennahrung angewiesen. Da nach *Brüning* $^2/_5$ Uneheliche gestillt werden, dürften dort ein großer Teil derjenigen mitgezählt sein, deren Mütter nur wenige Tage (unter einer Woche) während des Aufenthaltes in der Entbindungsanstalt gestillt haben.

Zur Vermeidung der durch die verschiedene Gebürtigkeit bedingten Fehlerquelle wurde die Stilldauer bei den *Erstgeborenen* des Jahrgangs 1910 festgestellt.

Tabelle IV. (Nur Erstgeborene.)

Gruppe	Zahl	Nicht gestillt		Nicht ausreich. gest.		Ausreichend gestillt		Voll gestillt	
		Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %	Knaben %	Mädchen %
1 u. 2	63	68	62	29	31	3	7	—	—
3	29	50	75	43	25	7	—	—	—
4	164	29	38	34	31	20,5	17	17,5	14
5	28	28	37	36	36	14	—	22	7
6	26	20	19	40	25	30	50	10	6

In Gruppe 1, 2 und 3 findet sich, da die *Unehelichen* zu $^2/_3$ Erstgeborene sind, keine bedeutende Veränderung. Die *ehelichen Erstgeborenen* stellen sich in allen 3 Gruppen günstiger, als die eheliche Gesamtkinderzahl.

[1]) Januar 1922.

Körpermaße: Den bisher besprochenen Erscheinungen der *Geburt* bezüglich des *Säuglingsalters* wird im folgenden das Ergebnis der *Aufzucht* des 1. bis 11. bezüglich des 12. Lebensjahres gegenübergestellt.

Die Kinder standen zur Zeit der Untersuchung in ihrem 11. bzw. 12. Lebensjahr. Dieser in den äußersten Fällen bis zu einem Jahr betragende Altersunterschied erschwert zwar eine ganz objektive Beurteilung des Zustandes der Kinder, doch würde eine weitere Zergliederung zu geringe Zahlen ergeben, auch zeigt sich, daß die Werte annähernd auf Mittelwerte ausgeglichen sind.

Als Maßstab für den jetzigen Zustand der Kinder, der es uns gestattet, zahlenmäßig zu messen, wurden *Körpermaße* (Größe und Gewicht), *Ernährungszustand* (bezeichnet mit 1 = sehr gut, 2 = gut, 3 = mäßig, 4 = ungenügend), sowie *Rohrer*scher *Index* benutzt. Sämtliche Autoren (*Harms*, *v. Brunn*, *Schlesinger* u. a.), die in letzter Zeit den Index nachgeprüft haben, erklären, daß er keinesfalls zur Auswahl besonders schlecht und schwach entwickelter Kinder geeignet ist. Unsere Untersuchungen beweisen das gleiche. In vielen Fällen entsprach der Zustand des Kindes durchaus nicht dem aus dem Körpermaße berechneten *Rohrer*schen Index.

Bei gleichzeitiger, anscheinend durch Unterernährung herbeigeführter *Wachstumshemmung*, evtl. auch bei Rachitikern fand sich oft sogar ein sehr hoher Index. Andererseits war bei zum Teil recht gut genährten Kindern bemittelter Kreise der Index besonders niedrig, vielleicht erklärlich durch das infolge eiweißreicherer Ernährung hervorgerufene *stärkere Längenwachstum*, das, da in 3. Potenz im Nenner des *Rohrer*schen Index, einen größeren Einfluß auf das Resultat ausübt, als das *Gewicht* (im Zähler mal 100). *Schlesinger*, der zu demselben Ergebnis kommt, weist darauf hin, daß der *Rohrer*sche Index wertvolle Ergebnisse beim *Vergleich ganzer Gruppen* aus verschiedenen Bevölkerungsschichten zu geben imstande ist, — ein berechtigter Grund, *Schlesingers* Angaben nachzuprüfen.

Für den Vergleich mit den Unehelichen kann nur die Gruppe 4 (eheliche Kinder, Einkommen der Eltern unter 2 bzw. 20 000 Mark) in Betracht kommen, da die Kinder der höheren Stände größere *Körperlänge* und, im geringeren Grade, auch größere *Gewichte* aufweisen, — übrigens nach *Pfaundler kein* Zeichen körperlicher Mehrwertigkeit, sondern begründet durch stark eiweißhaltige Kost, sitzende Lebensweise, geringere Körperbewegung und psychische Einflüsse. Das Zurückbleiben der Körperlänge gegenüber dem Mittelwert bedeutet nach *Pfaundler* durchaus keine pathologische Erscheinung. — wäre also ein weiterer Angriffspunkt gegen die Bewertung des *Rohrer*schen Index.

In Tabelle 5 sind die Normalwerte zusammengestellt, die von verschiedenen Seiten für die hier in Betracht kommenden Altersklassen bestimmt sind.

Tabelle V.

Normalmaße nach:

Jahre	*Heubner* Länge in cm Knaben	*Heubner* Länge in cm Mädchen	*Heubner* Gewicht in kg	*Friedental* Länge in cm	*Friedental* Gewicht in kg	*Pfaundler* Gewicht in kg
10	127,3	127,9	28	128	26,38	28,47
11	132,0	132,5	31	133	28,42	29,81
12	136,0	137,3	34	138	30,94	31,60

Normal-Index 1,22.

Die sich zwischen diesen Normalmaßen der verschiedenen Autoren findenden Unterschiede sind wohl daraus zu erklären, daß verschiedene Gegenden und verschiedene Bevölkerung als Material gedient haben. Ob die für *Münchener* bzw. *Berliner* Kinder geltenden Normalmaße auch für die *Rostocker* Kinder stimmen, ergibt ein Vergleich mit den folgenden Tabellen.

Tabelle VI.

Gesamtzahl der Kinder.

Gruppe	Größe in cm Knaben	Größe in cm Mädchen	Gewicht in kg Knaben	Gewicht in kg Mädchen	*Rohrer*scher Index Knaben	*Rohrer*scher Index Mädchen	Ernährungszustand Knaben	Ernährungszustand Mädchen
1	133,25	138,20	28,68	30,22	1,196	1,198	2,43	2,50
2	133,32	131,15	29,04	29,70	1,217	1,290	2,40	2,30
3	134,50	135,63	28,47	31,13	1,169	1,228	2,53	2,20
4	138,00	136,88	30,12	30,59	1,162	1,188	2,55	2,43
5	139,70	140,40	31,72	33,96	1,159	1,216	2,30	2,00
6	135,31	141,27	30,00	33,52	1,156	1,198	2,34	2,12
				Nur Erstgeborene allein.				
1 u. 2	134,37	135,5	29,03	30,55	1,192	1,227	2,44	2,34
3	134,40	138,1	27,86	31,60	1,150	1,200	2,60	2,13
4	140,10	138,6	31,37	31,19	1,141	1,181	2,47	2,62
5	145,70	141,4	32,71	33,93	1,155	1,185	2,21	2,00
6	141,70	142,5	32,90	33,75	1,151	1,161	2,33	1,85

Größe und *Gewichte* der *Unehelichen* bleiben hinter den Werten der *Ehelichen* zurück. Besonders für den Vergleich geeignet ist wieder die Gruppe 4, deren soziale und wirtschaftliche Lage den Unehelichen und Legitimierten am nächsten steht. Die Legitimierten nehmen eine Mittelstellung ein und nähern sich mit ihren Werten (besonders die Mädchen) den Ehelichen. Der *Ernährungszustand* zeigt eine bessere Stellung der Unehelichen, die zum Teil von den auf dem Lande untergebrachten Kindern herrührt. *Auch die oben erwähnte Auslese durch Säuglingssterblichkeit wird zu berücksichtigen sein.*

Die *Erstgeborenen* weisen in ihrer Gesamtheit höhere Maße auf. An vorliegendem Material kann also von „einer Minderwertigkeit der Erstgeburt“ keine Rede sein.

Wie bereits *Schlesinger* gefunden hat, *fällt* der *Rohrer*sche Index mit dem *besseren* Entwicklungszustande. Dieses Verhalten deckt sich also keineswegs mit dem Begriffe eines Maßstabes! *Schlesingers* Anschauung, daß die *niederen* Indexwerte die *günstigeren* Zahlen darstellen, wird demnach auch hier bestätigt.

Nach Berücksichtigung aller Faktoren läßt sich wohl sagen, daß eine geringe körperliche Minderwertigkeit der Unehelichen vom 11. bis 12. Jahr vorzuliegen scheint.

Zur Abgabe eines endgültigen Urteils muß noch der *Gesundheitszustand* der Kinder untersucht und verglichen werden. In der folgenden Tabelle sind alle Kinder, die gesundheitlich *nicht* vollwertig sind (tuberkulös oder skrofulös, infolge irgendeiner anderen Erkrankung oder durch angeborene Mängel körperlich schwach) zusammengefaßt:

Tabelle VII.

Gruppe	Zahl	Gesamt-Knaben %	1. Knaben %	Gesamt-Mädchen %	1. Mädchen %
1 und 2	87	22,5	24	22,5	14
3	39	30	28	36	13
4	598	22,7	15	19,7	14
5	57	18,75	21	16	21
6	72	12,5	—	12,5	19

Im ganzen hat man den Eindruck, daß der *jetzige* Gesundheitszustand des Unehelichen etwa auf der gleichen Stufe steht, wie der der Ehelichen. Die *Gesamtzahl* der *unehelichen* Knaben stellt sich etwas günstiger, als die der *ehelichen*, die der Mädchen dagegen schlechter, während es sich bei den *Erstgeborenen* umgekehrt verhält. Bemerkenswert ist ferner, daß in Gruppe 4 die *Erstgeborenen* besser dastehen gesundheitlich, als die *später Geborenen*. Das Auffallendste in der Tabelle ist die Erscheinung, daß die *Legitimierten* die höchsten Krankheitsziffern aufweisen, während sie, bezüglich Körpermaß in der Mitte zwischen Ehelichen und Unehelichen stehen — (entsprechend ihrer sozialen Lage und Stellung) — übertreffen sie hier die Unehelichen beträchtlich. Sollten die regelmäßige ärztliche Aufsicht über die Unehelichen sowie sonstige Fürsorgemaßnahmen deren Gesundheitsverhältnisse in so hohem Grade zu verbessern vermocht haben? Die Legitimierten, die eine gleiche schwächere Konstitution der Unehelichen mitbringen, werden durch die Legitimation dieser Aufsicht entzogen.

Geistige Entwicklung: Als Unterlagen für die Beurteilung dienten neben eigenen Beobachtungen und Aussagen der Eltern besonders das Urteil der Klassenlehrer der Kinder. Der Lehrer kann durch Ver-



gleich mit Durchschnittsleistungen am besten einen Eindruck von dem geistigen Zustand der Kinder gewinnen.

In der folgenden Tabelle sind zwei Grade geistiger Schwächen angenommen: eine solche *mittleren und höheren Grades*, die als „geistige Schwäche" und eine solche *geringeren* Grades, die als „schwache Begabung" bezeichnet ist.

Tabelle VIII.

Gruppe	Geistige Schwäche				Schwache Begabung			
	Ges.-Knb.	1. Knb.	Ges.-Mdch.	1. Mdch.	Ges.-Knb.	1. Knb.	Ges.-Mdch.	1. Mdch.
	%	%	%	%	%	%	%	%
1 u. 2	18	12	10	3,4	20	12	20	10
3	12,5	14	9	7	12,5	21	13	27
4	5	3	5	3,3	13,3	7	5,3	11
5	6,25	14	8	14	9,75	7	16	—
6	9,5	10	7,5	—	9,5	10	17,5	12

In allen Gruppen der Unehelichen findet sich eine höhere Zahl geistig Minderwertiger als bei der entsprechenden Gruppe 4 der Ehelichen. Die aus der Gesamtheit berechneten Zahlen der *unehelichen* Minderbegabten überragen sämtliche anderen Gruppen der Aufstellung. Die *Legitimierten* stehen wie bei den Körpermaßtabellen in der Mitte zwischen Unehelichen und Ehelichen, in den Stäben der Erstgeborenen stehen sie an erster Stelle!

Schließlich sollen die Kinder noch bezüglich vorhandener *Neuro-* und *Psychopathie* verglichen werden: Von einer getrennten Aufführung der Enuresis, des Pavor nocturnus, der Hysterie und psychopathischer Charakterveranlagungen (Neigung zum Lügen, Willensschwäche usw.). wurde der zu kleinen Zahlen wegen abgesehen.

Tabelle IX.

Gruppe	Ges.-Knaben	1. Knaben	Ges.-Mädchen	1. Mädchen
	%	%	%	%
1 u. 2	13	15	16	17
3	18	21	13	13
4	4	3	1	1,1
5	6,25	—	7	7
6	6,2	10	7,5	6

Bei *Unehelichen* und *Legitimierten* ist Neuro- und Psychopathie bei weitem häufiger als bei Ehelichen.

Die legitimierten Mädchen nehmen zwischen ehelichen und unehelichen Kindern eine Mittelstellung ein. Die unehelichen Mädchen weisen die größte Zahl von Neuro- und Psychopathen auf, die legitimierten Knaben dagegen übertreffen die unehelichen beträchtlich[1]).

[1]) Diese Feststellung erscheint insofern besonders bemerkenswert, weil sich *vielleicht* annehmen läßt, daß die Eltern der Unehelichen, die später noch die Ehe eingehen, zu den moralisch höherstehenden ihrer Kategorie gehören.



Bezüglich der geistigen Schwäche und der Neuro- und Psychopathie ist die Stellung der Legitimierten keine einheitliche, — vielleicht darauf zurückzuführen, daß beim Zustandekommen dieser Erscheinungen auch das Milieu mit wirksam ist. Je nachdem das eine oder das andere überwiegt, ist der Erfolg ein verschiedener.

Die *zusammenfassenden Ergebnisse* der Untersuchungen bieten demnach folgendes Bild:

Von der Gesamtzahl der im Jahre 1910 geborenen 1717 Kinder waren 428 = 24,9% uneheliche, von denen 109 durch spätere Heirat der Mutter legitimiert wurden. Die ledigen *Mütter* gehörten vorzugsweise der arbeitenden Bevölkerung an und standen zu 78% in einem Alter unter 25 Jahren. Die *Säuglingssterblichkeit* betrug 25,22% bei den Unehelichen gegenüber 14,88% bei den Ehelichen. Unter den *Todesursachen* stehen die *Ernährungsstörungen* an erster Stelle, bei den Unehelichen um 11% häufiger als bei den Ehelichen.

Die *Stilldauer* stellt sich für die unehelichen Säuglinge viel ungünstiger als für die ehelichen, während von ersteren über $^2/_3$ *gar nicht* gestillt sind, sind es von letzteren nur $^1/_3$.

Bezüglich der jetzigen *Körpermaße* der Kinder bleiben die *unehelichen* hinter den *ehelichen* zurück. Die *Legitimierten* stehen in der Mitte. Es muß also bei ihnen die bessere soziale Lage ihren Einfluß ausgeübt haben. Bei der Untersuchung des jetzigen *Gesundheitszustandes* finden sich nur geringe Unterschiede zwischen Unehelichen und Ehelichen. Die große Säuglingssterblichkeit der unehelichen Kinder hat die schwächsten Konstitutionen ausgemerzt, der Rest ist für den Lebenskampf kaum schlechter geeignet als die ehelichen Kinder. Die höchsten Krankheitsziffern weisen die Legitimierten auf, woraus vielleicht gefolgert werden darf, daß bei dieser Gruppe sich das Fehlen der ärztlichen Überwachung und sonstiger Fürsorgemaßnahmen bemerkbar macht. Ererbte geringere Widerstandsfähigkeit scheint also den Legitimierten mit den Unehelichen gemein zu sein.

In den Reihen der Unehelichen finden sich bedeutend mehr Kinder mit *geistiger Schwäche*, sowie *psychopathischer Veranlagung*, als unter den Ehelichen. Die *Legitimierten* nehmen keine einheitliche Stellung ein, es scheint hier neben der Vererbung das Milieu und die soziale Lage eine gewisse Rolle zu spielen.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen den Schluß ziehen, daß der Mehrzahl der Unehelichen eine minderwertigere körperliche und geistige Veranlagung und geringere Widerstandsfähigkeit angeboren ist.

Da die Schädigungen, denen die *uneheliche Schwangere* in höherem Grade als die eheliche ausgesetzt ist, eines der Hauptmomente darstellen, so muß eine weitgehende Fürsorge für diese einsetzen. Daß auch fernerhin eine intensive behördliche und ärztliche Fürsorge für die Unehe-

lichen im Säuglings- und späteren Kindesalter nicht nutzlos ist, zeigt das Ergebnis dieser Untersuchungen.

Mögen Staat und Gemeinde erkennen, wo es ihre Pflicht ist, soziale Gesundheitspolitik zu treiben.

Literaturverzeichnis.

Brüning, Die Säuglingssterblichkeit im Großherzogtum Mecklenburg-Schwerin, ihre Ursachen und ihre Bekämpfung. Bergmann, Wiesbaden 1909. — *Brüning*, Säuglingssterblichkeit und Kostkinderwesen in Mecklenburg-Schwerin. Zeitschr. f. Säuglingsfürsorge, Jahrgang 1908. — *Brüning*, Über die Häufigkeit der natürlichen und künstlichen Ernährung neugeborener Kinder im Medizinalbezirk Rostock. Zeitschr. f. Säuglingsfürsorge, Jahrgang 1909. — *Brüning* und *Balck*, Säuglingssterblichkeit in Rostock. Zeitschr. d. Säuglingsfürsorge, Jahrgang 1907. *Brunn*, Rohrerscher Index und Ernährungszustand. Zeitschr. f. Schulgesundheitspflege 1921, Heft 3—4. — *Feer*, Lehrbuch der Kinderheilkunde. Fischer, Jena 1917. — *Häberlein* und *Schwend*, Methoden zur zahlenmäßigen Darstellung des körperlichen Zustandes. Zeitschr. f. Sozialhygiene, Fürsorge u. Krankenhauswesen 1920/21, Heft 8. — *Harms*, Die Bedeutung des Rohrerschen Index für die Beurteilung von Massenuntersuchungen. Zeitschr. f. Sozialhyg., Fürsorge u. Krankenhauswesen 1921/22, H. 3. — *Nägler*, Ein weiterer Beitrag zum Problem des unehelichen Kindes. Inaug.-Diss. Rostock 1921. — *Pfaundler*, Körpermaßstudien an Kindern. Zeitschr. f. Kinderheilkunde **14**, H. 1 u. 2. — *Praetorius*, Über die Häufigkeit des Stillens und die Gründe des Nichtstillens bei der ärmeren BevölkerungRostocks. Inaug.-Diss. Rostock 1908. — *Reiter*, Die Konstitution des unehelichen Kindes. Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre **6**. 1920. — *Reiter*, Ein weiterer Beitrag zum Problem des unehelichen Kindes. Öffentl. Gesundheitspflege 1922. —*Reiter* und *Helm*, Wird die Sterblichkeit vor vollendeter Aufzucht durch die Geschwisterzahl und die soziale Lage der Eltern beeinflußt? Öffentl. Gesundheitspflege 1921, Heft 1 u. 11. — *Reiter* und *Klesch*, Beitrag zum Problem des unehelichen Kindes. Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 28. — *Reiter* und *Orthoff*, Die Bedeutung endogener und exogener Faktoren bei Kindern der Hilfsschule. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, Heft 2/3. — *Römer*, Die Rostocker Kostkinder in den ersten beiden Jahren nach der Reorganisation des Kostkinderwesens. Inaug.-Diss. Rostock 1913. — *Runze*, Die Rostocker Kostkinder im Kriege. Inaug.-Diss. Rostock 1919. — *Saul*, Säuglingssterblichkeit im Großherzogtum Mecklenburg-Schwerin. Inaug.-Diss. Rostock 1909. — *Salomon*, Die Geraer Schulkinder zu Beginn der Jahre 1921 und die Quäkerspeisung. Öffentl. Gesundheitspfl. 1921, Heft 6. — *Schlesinger*, Rohrerscher Index als Maß zur Beurteilung der Entwicklung der Kinder. Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 53. — *Schlesinger*, Die Indexmethode, insbesondere der Rohrersche Index als Maß zur Beurteilung der Entwicklung der Kinder. Zeitschr. f. Schulgesundheitspflege 1921, Heft 3/4. — *Selter, Paul*, Ist der uneheliche Säugling körperlich minderwertiger als der eheliche? Zentralbl. f. allg. Gesundheitspfl. 1907. — *Spaet*, Der Fürsorgearzt. München 1921, Lehmannverlag. — *Walter*, Ein Beitrag zur Frage über die Konstitution des unehelichen Kindes. Inaug.-Diss. Rostock 1921.



(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen [Direktor: Prof. Dr. *E. Gotschlich*].)

Zur Bakteriologie der entzündlichen Veränderungen der Gallenwege, insbesondere der Cholecystitis.

Von
H. Kliewe.

Die große Anzahl (150 Fälle) akuter und chronischer Cholecystitiden, die von Oktober 1920 bis Juli 1921 in der hiesigen chirurgischen Klinik (Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. *Poppert*) zur Operation kamen und im hiesigen Hygienischen Institut bakteriologisch untersucht wurden, ergab ein von den bisherigen bakteriologischen Befunden sehr abweichendes Resultat. In der Literatur sind die verschiedensten Mikroorganismen angegeben, die bei entzündlichen Veränderungen der Gallenwege gefunden wurden. Nachstehende Tab. I gibt eine Übersicht über die Befunde einiger Autoren aus der Literatur (s. Tab. I).

In den meisten positiven Fällen aus der Literatur (59%) wurde B. coli gefunden. Seltener sind dagegen die Befunde anderer Mikroorganismen, insbesondere der Staphylokokken, die für sich allein oder mit anderen Bakterien vergesellschaftet in nur 9,5% der Fälle gefunden wurden. Häufig sind auch gänzlich negative Fälle (24%). Vergleichen wir damit die Befunde des hiesigen hygienischen Institutes, so finden wir von den 150 untersuchten Cholecystitiden das B. coli commune in Reinkultur nur in 11% in der Gallenflüssigkeit, in 12% in der Gallenblasenwand und in 5% in der Leber. Staphylokokken in Reinkultur dagegen in 21% in der Galle, in 59% in der Blasenwand und in 57% in der Leber. Nur einmal wurde B. coli mit anderen Mikroorganismen (grampositiven Bacillen) in der Gallenblasenwand zusammen gefunden. Staphylokokken mit anderen Mikroorganismen 7 mal in der Gallenflüssigkeit, 12 mal in der Blasenwand und 6 mal in der Leber (s. Tab. II, 8), so daß insgesamt in der Gallenflüssigkeit in 26% der Fälle, in der Blasenwand in 68% und in der Leber in 63% Staphylokokken gefunden wurden.

In 100% bekamen wir von der Gallenblasenwand einen positiven Bakterienbefund; in 12 Fällen wurde die Blasenwand nicht untersucht, d. h. es kam nur Galle oder Galle und Leber des betreffenden Falles zur Untersuchung. (In derselben Weise sind die „nicht untersuchten“ Fälle unter Gallenflüssigkeit und Leber aufzufassen.) Die Gallenflüssigkeit zeigte in 58% einen positiven, in 42% einen negativen Befund.



Tabelle I.

	Anzahl der Fälle	B. coli	B. typhi	B. paratyphi	Streptoc.	Staphyloc.	Mischinfektionen	Andere Mikroorganismen	Steril
Blumenthal	14	4	4	1	—	—	—	1mal ein nicht gasbildendes Stäbch.	4
Feldmann	28	3	5	—	—	—	1mal Staphyloc. + Streptoc.	1mal Microc. tetrag. 1mal Paracolibac.	?
Fränkel und *Krause*	16	5	—	—	3	—	—	2mal unbewegliche Stäbchen 1mal Kapselbac. (Diploc. lanceolatus)	5
Gilbert und *Dominici*	3	3	—	—	—	—	—	—	—
Hartmann	46	23	—	—	2	4	3 mal Staphyloc. und andere Keime 2mal Staphyl. + Coli 1mal Staphyloc. + Coli + Streptoc.	1mal extra feine Stäbchen	10
Kehr	30	18	—	—	1	1	1mal Coli + Streptoc. 3mal Coli + Staphyl.	—	6
Kiralyfi	8	4	—	—	1	2	—	—	1
Laubenheimer	36	18	1	—	3	—	1mal Streptoc. + Staphyloc. 1mal Coli + Pyocyaneus 4mal Coli + Streptoc.	2mal Pseudodiphtheriebac. 2mal Kapselbac. 3mal Influenzabac. 1mal Bac. a. d. Gruppe d. anaerob. Gasbac.	—
Mierzkowski	23	14	—	—	1	—	2mal Coli + Staphyl. 1mal Coli + Streptoc.	—	5
Petersen	52	36	—	—	—	—	6mal Coli + Staphyloc. aureus 4mal Coli + Streptoc.	—	6
Riedel	3	1	—	—	1	1	—	—	—
Metge	138	75	12	1	10	4	[1])	[2])	66
Tricomi	16	4	—	—	—	—	3mal Coli + Staphyloc. aureus 3mal Coli + Pneumokokken	—	6
Chir. Univ.-Klin. Halle	7	2	1	—	—	—	1mal Coli + B. typhi	—	3
	470	210	23	2	22	12	45	27	112

[1]) B. coli vergesellsch. mit Proteus vulg. 1 mal, Pneumokokken 1 mal, Diplokokken 1 mal, grampos. Dipl. 1 mal, Streptokokken 2 mal, Staphylokokken 1 mal, coliartige, nicht näher identifizierte Stäbchen 1 mal.

[2]) Pneumokokken 3 mal, Dipl. lanceol. 1 mal, Pyocyaneus 3 mal, Faec. alcalig. 3 mal, nicht näher identifiziert 3 mal.



Tabelle II.

Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen der Gallenwege von 150 Fällen, ausgeführt im Hygienischen Institut Gießen:

	Gallenflüssigkeit		Gallenblasenwand		Leber	
Nicht untersucht [1])	13		12		45	
Demnach untersuchte Fälle	137		138		105	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
Davon waren positiv	79	58	138	100	84	80
negativ	58	42	0	0	21	20
1. Staphylokokken	29	21	82	59	60	57
2. Streptokokken	6	4	7	5	3	3
3. B. typhi	1	0,7	1	0,7	0	0
4. B. paratyphi B	6	4	7	5	1	1
5. B. coli commune	15	11	16	12	5	5
6. Andere Darmbakterien	7	5	7	5	3	3
a) Paratyphus verdächtige Bacillen	1	0,7	1	0,7	0	0
b) Bewegliche Bacillen aus der Coligruppe	1	0,7	1	0,7	0	0
c) Unbewegliche Bacillen aus der Coligruppe	1	0,7	0	0	0	0
d) Coliartige schleimbild. unbewegl. Bacillen	1	0,7	1	0,7	0	0
e) Unbewegliches schleimbildendes B. coli	1	0,7	1	0,7	1	1
f) Grampos. schleimbild. Bac. teilweise in Fäden	2	1,5	2	1,5	1	1
g) B. proteus	0	0	1	0,7	1	1
7. Andere Bakterien	8	6	6	4	6	6
a) Grampositive Diplokokken	0	0	1	0,7	0	3
b) Grampositive kurze Bacillen	3	2	1	0,7	3	1
c) Grampositive dicke Bacillen	0	0	0	0	1	1
d) Gramnegative Bacillen	0	0	1	0,7	0	1
e) Unbewegliche gramnegative Stäbchen	1	0,7	1	0,7	0	6
f) Gramneg. Kokken, meist zu zweien liegend	2	1,5	1	0,7	0	0
g) Pseudodiphtherie ähnliche Bakterien	1	0,7	1	0,7	1	3
h) Pyocyaneus	1	0,7	0	0	0	0
i) Sarcine	0	0	0	0	1	1
8. Mischinfektionen	7	5	12	9	6	1
Staphylokokken mit a) Streptokokken	1	0,7	5	3,7	3	1
Staphylokokken mit b) Pneumokokken	1	0,7	1	0,7	0	0
Staphylokokken mit c) Grampositive kurze Bacillen	2	1,5	2	1,5	0	0
Staphylokokken mit d) Gramnegative Stäbchen aus der Proteusgruppe	1	0,7	0	0	0	0
Staphylokokken mit e) Gramposit. Bac. (Subtilisgruppe)	0	0	1	0,7	1	1
Staphylokokken mit f) Gramposit. Bakt. Diplokokken ?	1	0,7	1	0,7	1	1
Staphylokokken mit g) Sporenbildner	1	0,7	1	0,7	1	1
B. Coli + grampositive Bacillen	0	0	1	0,7	0	0

In der Leber fanden sich in 80% Mikroorganismen. Diese Zahlen zeigen, daß die Gallenblasenwand und Leber das Hauptkontingent an positiven Bakterienbefunden und besonders an Staphylokokken stellen. Diese Organe müssen also zur Untersuchung kommen, wenn man einen

[1]) D. h. es wurden nicht sämtliche 3, sondern nur 1 oder 2 Materialproben untersucht.

positiven Befund bei Cholecystitis erhalten will. Anscheinend wurden diese Faktoren bei früheren Untersuchungen nicht genügend gewürdigt, sonst hätte man nicht so viele negative Befunde gehabt, es sei denn, daß ein Empyem oder andere Erkrankungen der Gallenwege vorlagen. Hier findet man ja häufiger sterilen Eiter. Ein anderer Umstand, dem wir die zahlreichen positiven Befunde verdanken, liegt in der regelmäßigen Anwendung eines von *Huntemüller* empfohlenen Anreicherungsverfahrens, worüber dieser Autor neuerdings bereits selbst berichtet hat.

B. coli commune.

B. coli galt bisher als Haupterreger der Cholecystitis. Ich verweise nur auf die Arbeiten von *K. Laubenheimer* und *Oettinger*. Wir können nach unseren Befunden diese Ansicht nicht teilen; vielmehr müssen wir dem B. coli in seiner ursächlichen Bedeutung für die Cholecystitis erst die zweite Stelle nach den Staphylokokken einräumen. Andererseits können wir freilich auch nicht die Ansicht derjenigen Autoren teilen, die das Vorhandensein einer primär durch B. coli verursachten Cholecystitis bestreiten. So sagt u. a. *Ortner*: Wo das B. coli lediglich auf Grund des Plattenkulturverfahrens als ausschließlicher Erreger einer Gallenweginfektion bzw. -eiterung angesprochen wird, finden sich in den entsprechenden mikroskopischen und histologischen Präparaten Mikrokokken, zuweilen in großer Zahl, der Gruppe unserer Eiterkokken zugehörig. Einzelne Fälle (7) aus unserem Material entsprechen diesem Bilde, indem in der Leber Staphylokokken, dagegen in der Galle und Gallenblasenwand B. coli gefunden wurde. Andererseits verfügen wir jedoch über 16 Fälle reiner Coliinfektion ohne jede Staphylokokkenbeimengung. Die Ansicht von *Ortner* ist deshalb wohl unhaltbar. Auch der von *Blumenthal* und *Hamm* vertretenen Ansicht, daß in den meisten Fällen das B. coli der Cholecystitis nicht mit dem klassischen B. coli des Darmes identisch ist, sondern daß es sich um coliähnliche Bakterien handele, müssen wir nach unseren Befunden entgegentreten. Unsere Colistämme zeigten mit Ausnahme zweier, die kein Indol bildeten und Traubenzucker nicht vergärten, kulturell keine Abweichungen vom echten B. coli des Darmes. Einer dieser beiden Stämme war unbeweglich, der andere beweglich, beide wurden auch als alleiniger Befund in der Leber nachgewiesen, d. h. sie sind die primären Erreger der Erkrankung. Die anderen Stämme unterscheiden sich nur durch ihre Beweglichkeit. Unbewegliches B. Coli wurde in der Galle 8 mal, in der Blasenwand 8 mal und in der Leber 3 mal gefunden; bewegliches B. coli in der Galle 7 mal, in der Blasenwand 8 mal und in der Leber 2 mal. Ob die Beweglichkeit unter den pathologischen Verhältnissen der Gallenblase gelitten hat, oder ob es sich um eine unbewegliche Form der Coligruppe (Bac. aerogenes) handelt, ist nicht zu sagen. Denn auch im



normalen Stuhl findet man neben beweglichen, unbewegliche Formen. *Stöcklin* fand z. B. von 300 aus normalem Stuhle rein gezüchteten Colistämmen 116 beweglich, die übrigen 184 völlig unbeweglich. Erwähnt sei noch, daß die meisten B. coli-Befunde aus den Monaten Juli und August stammen, gleichfalls zahlreiche Befunde sind im November und Dezember registriert worden, während in der Zeit von März bis Ende Juni nur äußerst selten B. coli gefunden wurde (s. Tab. III). Unter Berück-

Tabelle III.
Jahreszeitliche Zusammenstellung der Erreger.

Monat	Zahl der mit posit. Ergebnis untersuchten Proben	Nachgewiesen wurden						Andere Erreger, darunter auch Mischinfektionen	
		Staphylokokken		B. coli		andere Darmbakt. einschl. B. typhi und paratyphi			
		Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
1920									
Oktober . .	1	·	·	·	·	·	·	1	·
November .	6	3	50	2	33	·	·	2	33
Dezember .	16	9	55	4	25	·	·	4	25
1921									
Januar . .	47	23	49	12	25	7	15	7	15
Februar . .	47	30	64	4	8	5	10	15	32
März . . .	27	22	85	·	·	·	·	9	33
April . . .	36	24	66	1	3	4	11	8	22
Mai	31	23	74	·	·	3	10	5	18
Juni . . .	45	38	85	2	4	4	9	4	9
Juli	41	20	49	13	32	2	5	6	15
August[1]) .	50	25	50	17	34	6	12	8	16
September .	12	8	66	·	·	·	·	4	33
Oktober . .	24	19	79	3	12	2	8	·	·
November .	26	17	65	6	23	2	8	2	8
Dezember .	17	17	100	·	·	·	·	·	·

sichtigung dessen, daß naturgemäß die Krankheit meistens schon eine Zeitlang vor der Operation bestanden hat, wäre in diesem Überwiegen der B. coli-Befunde im Sommer und ersten Teil des Winters vielleicht eine Nachwirkung der in diesen Monaten häufigeren Darmerkrankungen zu sehen. Doch sind die Zahlen zu klein und unregelmäßig, um endgültige Schlüsse zu rechtfertigen.

Staphylokokken.

Im Gegensatz zum B. coli beanspruchen nach unseren Befunden die Staphylokokken als Erreger der Cholecystitis eine überragende Bedeutung. Bekanntlich können Staphylokokken wie Streptokokken,

[1]) Die Proben von August bis September gehören nicht zu den in Tabelle II angeführten 150 Fällen.



Pneumokokken u. a. in den oberen Luftwegen (die Staphylokokken auch auf der Haut) ein harmloses saprophytisches Dasein führen. Besondere äußere Einwirkungen, durch welche eine lokale oder allgemeine Schädigung des Organismus gesetzt wird, seien es Erkältungen, unbedeutende Verletzungen der Haut, Mischinfektionen usw., lassen die Kokken ins Blut und von dort aus in die Leber und Gallenblase eindringen. In diesem Zusammenhange sei an die verdienstvollen Forschungen *Noetzels* erinnert, der darauf hinweist, daß die Lymphdrüsen keine absolute Schutzwehr gegen das Eindringen infektiöser Keime in das Blut darstellen, und der den Transport ins Blut u.U. auf dem Lymphwege zustande kommen sah, wie durch Aufnahme durch offene Blutgefäße in Wunden. Daß das Vorhandensein von Keimen im kreisenden Blut nicht etwa identisch ist mit Septicämie, darauf hat *Gotschlich* anläßlich seiner Studien über Pest hingewiesen. Verschleppung von Keimen auf dem Blutwege infolge ungenügender Schutzwirkung der Lymphdrüsen und die Möglichkeit des Nachweises dieser Keime in der Blutbahn ist viel häufiger gegeben, als man früher annahm. Es handelt sich hier um einen rein mechanischen Transport, während Septicämie erst vorliegt, wenn infolge Lähmung der Schutzkräfte des Organismus eine Vermehrung der Keime im Organismus stattfindet. In der Gallenblase scheinen die Keime lange Zeit unbeschadet für den Organismus verweilen zu können, solange eine latente Infektion besteht. Erst wenn das Gleichgewicht zwischen der ruhenden Infektion und der Abwehrkraft des Körpers gestört ist, können die in den Gallenwegen lokalisierten Mikroorganismen eine Entzündung hervorrufen. Damit ist der so häufige Befund von Staphylokokken-Cholecystitis erklärt.

Kulturell erwiesen sich die Kokken als typische Staphylokokken. Auf Agar bildeten sie runde, glänzende, grauweiße, undurchsichtige Kolonien. Die Bouillon war nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt und zeigte Bodensatz. 12 Stämme zeigten Hämolyse, im Traubenzuckerstich wuchsen sie bis in die Tiefe ohne Gärung, einzelne Stämme verflüssigten nicht Gelatine. Nur 3 Stämme zeigten atypisches Wachstum. Sie wuchsen auf Agar als kreisrunde, zarte, durchscheinende Kolonien, wie Streptokokken. Der erste Stamm zeigte Hämolyse, trübte gleichmäßig Bouillon und verflüssigte nicht Gelatine. Der 2. Stamm wuchs genau so, nur war die Bouillon anfangs klar, erst nach mehreren Tagen trat Trübung ein. Der 3. Stamm zeigte keine Hämolyse, Gelatine wurde verflüssigt und zeigte auf der Oberfläche ein Häutchen. Im mikroskopischen Präparate lagen die grampositiven Kokken einzeln, zu zweien, zu dreien und in Häufchen. Erst nach mehrmaligem Überimpfen konnten sie als Staphylokokken identifiziert werden. Vielleicht handelte es sich in diesen Fällen um einen sogenannten Zwergwuchs, wie ihn *Gildemeister*, *Gotschlich* u. a. von Typhuskolonien beschrieben.



Die Mehrzahl der anderen Stämme zeigte keine Farbbildung, was sich wohl aus dem langen Aufenthalt im Körper erklärt. Auch nach mehrmaligem Überbringen auf andere Nährböden bei 20—22° C und Aufbewahrung im diffusen Tageslicht trat keine Farbbildung auf. Ungefähr 10 Stämme zeigten nach mehrwöchiger Beobachtung schwach gelbliches Pigment, nur 4 typischen goldgelben Farbstoff. Um zu prüfen, ob in unseren Fällen die Serodiagnostik für eine Staphylokokkenmykose spreche, wurden Agglutinationsversuche mit 3 verschiedenen Seris angestellt. Das erste Immunserum stammte von einem Kaninchen, dem Staphylokokken injiziert wurden, die aus dem Eiter einer wegen Ovarialtumor, Perisigmoiditis usw. operierten Patientin gezüchtet wurden, das zweite Kaninchenimmunserum von einem Tier, das mit einem Staphylokokkus von einer wegen Uterus myomatosus operierten Patientin behandelt war. Der Stamm wurde aus der 7 Tage p. op. stattfindenden leichten Wundeiterung gezüchtet. Das dritte Serum stammte von einer wegen Cholecystitis operierten Patientin. Mit diesen Seris wurden zur Kontrolle noch 5 Staphylokokkenstämme, aus der Luft und von der Haut gezüchtet, und ein Prodigiosusstamm der Agglutinationsprobe unterworfen (s. Tab. IV).

Tabelle IV.

Es wurden: *20 pathogene* Stämme

mit J.-S. I agglutiniert, und zwar	mit J.-S. II, und zwar	mit Pat.-S. III, und zwar
1 Stamm bis 1 : 20	4 Stämme bis 0	4 Stämme bis 1 : 40
2 Stämme „ 1 : 80	8 „ „ 1 : 20	5 „ „ 1 : 80
10 „ „ 1 : 160	4 „ „ 1 : 40	9 „ „ 1 : 160
5 „ „ 1 : 320	1 Stamm „ 1 : 80	
2 „ „ 1 : 640	3 Stämme „ 1 : 160	2 „ „ 1 : 320
der eigene Stamm 1 : 80	der eig. Stamm bis 1 : 320	der eig. Stamm bis 1 : 160
	5 saprophytische Stämme	
1 Stamm bis 1 : 160	2 Stämme bis 1 : 160	2 Stämme bis 0
2 Stämme „ 1 : 320	3 „ „ 1 : 320	3 „ „ 1 : 80
2 „ „ 1 : 640		

Der Prodigiosusstamm wurde mit dem J.-S. I bis 1 : 160, mit J.-S. II. bis 1 : 40 und mit Pat.-S. III 1 : 20 agglutiniert. Einer der pathogenen Stämme wurde vom J.-S. I bis 1 : 20 agglutiniert, während er vom J.-S. II und Pat.-S. III bis 1 : 160 agglutiniert wurde. Andere Stämme wurden vom J.-S. I und Pat.-S. III gleich hoch agglutiniert, vom J.-S. II aber gar nicht. Wieder andere Stämme wurden vom J.-S. I hoch agglutiniert, vom Pat.-S. III nicht ganz so hoch, vom J.-S. II aber gar nicht oder auch nur gering. Nur 3 Stämme wurden von allen 3 Seris gleich hoch bis 1 : 160 agglutiniert. 3 saprophytische Stämme wurden vom J.-S. I und II gleich hoch agglutiniert,

vom Pat.-S. III. aber gar nicht. 2 andere saprophytische Stämme wurden vom J.-S. I. hoch agglutiniert bis 1 : 640, von den andern beiden Seris schwach bis 1 : 160. Wir müssen aus diesen ziemlich regellosen Ergebnissen die Folgerung ziehen, daß wir auf Grund der Agglutinationen allein den Cholecystitisstämmen eine bestimmte Beziehung zu dem Organismus nicht zusprechen können. Wir müssen auch bei unseren Staphylokokkenagglutinationen einerseits mit einer Pluralität der Agglutininreceptoren und dadurch bedingter Verschiedenheit der bei der Immunisierung entstehenden Agglutinine, andererseits mit der Inagglutinabilität einzelner Staphylokokkenstämme rechnen.

Streptokokken.

Neben Staphylokokken finden wir bei normalen und pathologischen Verhältnissen auf den Schleimhäuten der oberen Luftwege Streptokokken. Man hätte erwarten sollen, daß sie bei entzündlichen Prozessen in den Gallenwegen ebenso häufig wie jene gefunden würden. Aber sie konnten nur 6 mal aus der Gallenblase, 7 mal aus der Gallenblasenwand und 3 mal aus der Leber gezüchtet werden. Die Ergebnisse von *J. Kochs* Tierversuchen geben uns dafür eine Erklärung. Die ins Blut eingedrungenen Streptokokken gelangen nur selten auf hämatogenem Wege in die Gallenblase. Ihr Infektionsweg führt durch die Lymphbahnen, insbesondere des Verdauungsstraktus, zur Allgemeininfektion des Organismus und besonders des Blutes. Zur Ausscheidung durch die Leber und Niere kommt es selten. Sodann zeigen die Streptokokken im Gegensatz zu Staphylokokken wenig Neigung zur Bildung lokaler Entzündungsherde der inneren Organe. Die Ansicht *Rosenows*, daß sich in der Blasenwand bei Gallenblasenentzündungen gewöhnlich Streptokokken nachweisen lassen, während sie in der Galle fehlen, entspricht nicht unseren Befunden. Wir konnten in Galle und Blasenwand ungefähr die gleiche Anzahl (6 bzw. 7) nachweisen. In 2 Fällen ließen sich sogar aus der Galle nach direktem Ausstrich, also ohne Anreicherung die Streptokokken züchten, in den anderen 4 Fällen erst nach 24stündiger Anreicherung in Bouillon. Man hatte eine längere Anreicherungszeit oder mehr negative Befunde erwartet, da die Streptokokken bekanntlich in der Galle in ihrem Wachstum sehr gehindert werden. Morphologisch und kulturell boten unsere Stämme keine Besonderheiten, nur ein aus der Galle gezüchteter Stamm zeigte atypisches Wachstum, in Form undurchsichtiger dicker Kolonien.

Bact. typhi und paratyphi B.

Berichte über Typhus- bzw. Paratyphus-Cholecystitiden finden sich in der Literatur in größerer Zahl. Eine genaue Zusammenstellung der Fälle bietet die Arbeit von *Posselt*: Beziehungen zwischen Leber,



Gallenwegen und Infektionskrankheiten. Inwieweit es sich um Nacherkrankungen handelte, die kürzere oder längere Zeit nach Ablauf des Abdominaltyphus manifest wurden, oder um Cholecystitiden, primär durch Typhusbacillen verursacht, ist schwer zu entscheiden. Es konnten nur je einmal aus Galle und Blasenwand ein atypisches, unbewegliches B. typhi nachgewiesen werden, das durch Typhusimmunserum bis in einer Verdünnung von 1 : 3200 agglutiniert wurde. Viel häufiger fanden wir die in hiesiger Gegend oft endemisch auftretenden Paratyphus B-Bacillen, und zwar 6 mal in der Galle, 7 mal in der Blasenwand und 1 mal in der Leber. Agglutination: 2 Stämme in Verdünnung bis 1 : 1600, 4 bis 1 : 3200, 1 Stamm bis 1 : 6400. Auffallend ist, daß Paratyphusbacillen nur 1 mal und Typhusbacillen gar nicht aus der Leber gezüchtet wurden. Diese eigentümliche zahlenmäßige Verteilung der Typhus- und Paratyphusbacillen, die im umgekehrten Verhältnis wie die Staphylokokken häufiger in der Gallenblase und Gallenblasenflüssigkeit gefunden wurden und die auf den ersten Blick, in demselben Sinne wie bei B. coli auseinandergesetzt, auf eine Infektion vom Darm aus hindeuten, läßt im Hinblick auf die Arbeiten von *Chiari*, *Doerr*, *Forster* und seinen Schülern, die zeigten, daß Typhus- und Paratyphusbacillen ausschließlich auf dem Blutwege in die Gallenblase gelangen, die Deutung zu, daß Leber und Gallenwege zwar auf dem Blutwege infiziert worden sind, daß aber die Bacillen in der Leber eher eliminiert wurden, während sie sich in der Gallenblase festsetzten und von dort aus dauernd die Gallenflüssigkeit infizierten.

Pneumokokken.

Pneumokokken konnten wir nur je 1 mal aus Galle und Blasenwand, und zwar zusammen mit Staphylokokken züchten. Wo sie bei anderen Autoren gefunden wurden, handelte es sich meist um ein Empyem der Gallenblase. Wir müssen in diesen Fällen eine Misch- oder sekundäre Infektion annehmen. Denn die Galle wirkt bekanntlich auf die Pneumokokken bakteriolytisch; eine Ansiedlung und Vermehrung des Kokkus in der Gallenblase ist deshalb nur dann möglich, wenn die Gallenblase oder ihr Inhalt vorher stark verändert ist. Die sekundäre Infektion kann sowohl direkt durch die Capillaren der Gallenblasenwand oder auch indirekt von der Leber aus erfolgen.

Mischinfektionen.

Auch in unseren Fällen von Mischinfektionen hat sich die früher herrschende Ansicht von der vorwiegenden Bedeutung des B. coli nicht bestätigt, während Staphylokokken fast regelmäßig gefunden wurden (vgl. Tab. II, 8). Es fand sich in der Gallenflüssigkeit 7 mal



eine Mischinfektion, und zwar nur Staphylokokken in Begleitung von anderen Bakterien, in der Blasenwand 12 mal, darunter 1 mal B. coli mit grampositiven Bacillen zusammen; in der Leber 6 mal, und zwar auch nur Staphylokokkenmischinfektionen. *J. Koch* macht auf die auffallende Häufigkeit von Mischinfektionen bei der Streptokokkeninfektion aufmerksam. Kulturell und im mikroskopischen Präparat wies er häufig ein dem Colibacillus ähnliches Stäbchen nach. Wir konnten dieses nicht beobachten, auch andere Autoren erwähnen nichts davon. Wir fanden Streptokokken nur zusammen mit Staphylokokken, und zwar 1 mal in der Gallenblase, 5 mal in der Blasenwand, und 3 mal in der Leber. Wir können hiernach die Möglichkeit, daß beide Kokkenarten gleichzeitig auf hämatogenem Wege, wohl von den oberen Atmungswegen aus, woher auch die Pneumokokken und pseudodiphtherieähnlichen Bacillen stammen dürften, eingewandert sind, nicht ausschließen. Auffallend ist noch, daß wir nie Colibacillen mit Staphylokokken in demselben Organ zusammenfanden.

Andere Erreger.

Von den anderen in Tab. II, 7 angegebenen Mikroorganismen, die wir bei unseren Fällen fanden, hat der häufigere Befund von grampositiven, kurzen Bacillen Interesse. Wir fanden diesen Bacillus in Reinkultur 3 mal in der Galle, 1 mal in der Blasenwand und 3 mal in der Leber, mit Staphylokokken zusammen 2 mal in der Galle und 2 mal in der Blasenwand; mit B. coli 1 mal in der Blasenwand. Die Bacillen sind von Pseudodiphtheriebacillen schwer zu unterscheiden, morphologisch und kulturell ähneln sie diesen sehr.

Infektionsweg.

Aus unserem Material lassen sich, rein statistisch betrachtet, noch gewisse Schlüsse über den Infektionsweg der einzelnen Mikroorganismen ziehen. Sicherlich kommen für die verschiedenen Arten von Bakterien auch verschiedene Infektionswege im lebenden Körper in Frage. *Staphylokokken nehmen wahrscheinlich nur den hämatogenen Weg zur Gallenblase.* Unsere Befunde sprechen insofern dafür, als die Kokken in keinem einzigen Falle allein in der Galle, sondern daneben immer noch in der Blasenwand oder Leber nachgewiesen wurden, und daß wir andererseits über zahlreiche Fälle verfügen, in denen Leber und Gallenblase von Staphylokokken infiziert waren, die Gallenflüssigkeit aber steril war. Endlich konnten in den Fällen, in denen bei Staphylokokkenbefunden in der Galle die Blasenwand andere Mikroorganismen enthielt, die Kokken ausnahmslos auch in der Leber nachgewiesen werden (s. folgende Tab. V).

Tabelle V. Gleichzeitige Befunde verschiedener Bakterienarten in verschiedenen Teilen der Gallenwege. (Die Fälle sind bereits in Tabelle II enthalten.)

Anzahl	Gallenflüssigkeit	Gallenblasenwand	Leber
5 mal	B. coli (4 mal beweglich 1 mal unbew.)	B. coli (4 mal beweglich 1 mal unbew.)	Staphylokokken
1 mal	—	B. coli (beweglich)	Staphylokokken
1 mal	Staphylokokken	B. coli (beweglich)	Staphylokokken
1 mal	Coliartige, schleimbildende unbewegl. Bacillen		Staphylokokken
1 mal	—	Staphylokokken	B. coli (unbeweglich)
1 mal	B. coli (unbeweglich)	Streptokokken	—
1 mal	Grampositive Bacillen	B. coli (beweglich) und grampositive Bacillen	B. coli (beweglich)
1 mal	Streptokokken	Staphylokokken	Negativ
1 mal	Staphylok. + Streptok.	Staphylok. + Streptok.	Staphylokokken
1 mal	Staphylokokken	Staphylokokken	Staphylok. + Streptok.
1 mal	Negativ	Staphylokokken	Staphylok. + Streptok.
2 mal	Staphylok. + grampos. Bacillen	Staphylok. + grampos. Bacillen	Staphylokokken
1 mal	Grampositive Bacillen	Staphylokokken	Staphylokokken
3 mal	Negativ	Staphylokokken	Gramposit., dicke Bac.
1 mal	Grampositive, kurze, bewegliche Stäbchen	Grampositive, kurze, bewegliche Stäbchen	Staphylokokken
1 mal	Staphylok. + gramneg. Stäbchen aus der Proteusgruppe	—	Staphylokokken
1 mal	Staphylok. + Pneumok.	Staphylok. + Pneumok.	Staphylokokken
1 mal	Negativ	B. paratyphi B	Staphylokokken
1 mal	Staphylokokken	Gramnegative Bacillen	Staphylokokken

Über den Infektionsweg der Streptokokken, Typhus- und Paratyphusbacillen wurde bereits oben berichtet.

Die Infektion der Gallenblase durch die verschiedenen Arten von B. coli und anderen darmheimischen Bakterien kann sowohl vom Darm aus als auch vom Blutwege her erfolgen. Handelt es sich um das bewegliche B. coli und werden die Bacillen nur in der Galle und Blasenwand gefunden, dann liegt wahrscheinlich eine ascendierende Infektion vor, dafür sprechen die Befunde in Tab. V: In der Galle und Blasenwand wurde mehreremal bewegliches B. coli gefunden, während bei denselben Fällen in der Leber Staphylokokken nachgewiesen wurden. Werden Colibacillen auch in der Leber gefunden, dann ist der descendierende Weg wahrscheinlich.

Über Infektionsweg, Bakteriologie und Klinik dieser 150 Fälle werden Prof. *Huntemüller* und Prof. *Gundermann* in besonderen Arbeiten berichten.

Zusammenstellung.

1. Bei entzündlichen Prozessen der Gallenwege, insbesondere der Cholecystitis, finden sich die verschiedensten Mikroorganismen.



2. B. coli commune kommt dabei seltener vor, als bisher allgemein angenommen wurde. Von 150 untersuchten Fällen fanden wir B. coli in Reinkultur in 11% in der Gallenflüssigkeit, in 12% in der Blasenwand und in 5% in derLeber. Nur 1 mal, und zwar in der Gallenblasenwand, wurde B. coli in Mischinfektion (mit grampositiven Bacillen) gefunden.

3. Die Hauptrolle in der Ätiologie der entzündlichen Prozesse der Gallenwege, insbesondere der Cholecystitis, kommt den Staphylokokken zu, denn wir fanden sie in der Gallenflüssigkeit in 16% (11% Reinkultur, 5% Mischinfektion), in 68% in der Gallenblasenwand (59% Reinkultur, 9% Mischinfektionen), in 63% in der Leber (57% Reinkultur, 6% Mischinfektionen).

4. In der Gallenblasenwand werden die Mikroorganismen, insbesondere die Staphylokokken, am häufigsten gefunden (100% resp. 67%), dann in der Leber (80% resp. 63%), am wenigsten in der Gallenflüssigkeit (58% resp. 26%).

5. Die Infektion der Gallenwege erfolgt durch Staphylokokken nur auf hämatogenem Wege, durch B. coli und andere darmheimische Bakterien sowohl vom Darm als auch vom Blutwege her.

Literaturverzeichnis.

[1]) *Blumenthal* und *Hamm*, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chirurg. **18**, H. 4. 1908. — [2]) *Blumenthal*, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **88**. — [3]) *Chiari*, Prager med. Wochenschr. 1893, Nr. 32. — [4]) *Doerr*, Zentralbl. f. Bakteriol. **39**. 1905. — [5]) *Feldmann*, Wien. klin. Wochenschr. 1905, S. 1309. — [6]) *Forster*, Münch. med. Wochenschr. 1908, S. 1. — [7]) *Fränkel* und *Krause*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrank. **32**, 97. — [8]) *Gilbert* und *Dominici*, zit. nach A. Oettinger, Inaug.-Diss. Halle 1910. — [9]) *Gildemeister*, Zentralbl. f. Bakteriol. , Parasitenk. u. Infektionskrankh., I. Abt., Orig. **78**, 220. — [10]) *Koch, J.*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **60**, 335. — [11]) *Gotschlich*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **35**, 231. — [12]) *Gotschlich*, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 22. — [13]) *Hartmann*, Dtsch. Zeitschr. f. Chirurg. **68**, 207. — [14]) *Huntemüller*, Zentralbl. f. inn. Med. 1921, Nr. 52. — [15]) *Kehr*, Zit. nach A. Oettinger, Inaug.-Diss. Halle 1910. — [16]) *Kiralyfi*, Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 42, S. 1985. — [17]) *Laubenheimer, K.*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **58**. 1908. — [18]) *Metge*, Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 29. — [19]) *Miezkowski*, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chirurg. **6**, 307. — [20]) *Noetzel*, Bruns' Beitr. z. klin. Chirurg. 1906. — [21]) *Oettinger, A.*, Inaug.-Diss. Halle 1910. — [22]) *Ortner*, Zit. nach Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. **17**. 1895. — [23]) *Petersen*, Zit. nach A. Oettinger, Inaug.-Diss. Halle 1910. — [24]) *Posselt*, Ergebn. d. allg. Pathol. u. pathol. Anat. Jg. 19, Abt. 1. 1919. — [25]) *Riedel*, Münch. med. Wochenschr. 1912, S. 8. — [26]) *Rosenow*, Journ. of the Americ. med. Ass. Vol. 63, 1914, S. 1835. — [27]) *Stöcklin*, Zit. nach Kolle-Wassermann, **2**, 343. — [28] *Tricomi*, Zit. nach A. Oettinger, Inaug.-Diss. Halle 1910.



(Aus der Universitäts-Kinderklinik in Wien. [Vorstand: Prof. Dr. *C. Pirquet*].)

Über Roseola paratyphosa.

(Bemerkungen zur gleichnamigen Arbeit von *Eugen Fränkel* in Band 93, Heft 2 und 3, 1921 dieser Zeitschrift.)

Von
Privatdozent Dr. **Edmund Nobel,**
Assistent der Klinik.

In einer in Nr. 27 der deutschen Medizinischen Wochenschrift vom Jahre 1918 gemeinsam mit *Zilczer* (nicht *Zilcher!*) veröffentlichten Arbeit über „Paratyphus - A - Fälle mit Exanthem" hat es sich uns um die Beantwortung der Frage gehandelt, ob bei den von uns damals in größerer Zahl beobachteten Fällen von Paratyphus A-Infektionen, bei denen das roseoläre Exanthem so dicht war, daß es klinisch leicht mit Fleckfieber hätte verwechselt werden können, im histologischen Befunde der excidierten Roseolen irgendwelche gegenseitige Gleichmäßigkeiten nachzuweisen waren und „ob etwa auch differentialdiagnostische Momente gegenüber den Fleckfieberroseolen zu konstatieren wären".

Fränkel bezeichnet derartige Untersuchungen als „überflüssig", nachdem er „durch mehrfache, von zahlreichen Untersuchern bestätigte, den beiden Autoren anscheinend völlig unbekannt gebliebene Arbeiten bereits mehrere Jahre vorher den für die Fleckfieberroseolen spezifischen, von dem der Typhusroseolen völlig abweichenden Bau klargestellt und durch zahlreiche Mikrophotogramme erläutert hatte". Weshalb *Fränkel* der Ansicht ist, daß uns seine Arbeit unbekannt geblieben ist, erscheint unerfindlich; er hat sich in dieser, wie er selbst angibt, mit Typhus und Fleckfieber beschäftigt, uns hat es sich um Paratyphus A gehandelt, um etwaige Gleichmäßigkeiten im histologischen Befunde der Paratyphus A-Roseolen und Differenzen gegenüber Fleckfieber. Darüber hat auch *Fränkel* bis zu seiner obigen Arbeit *gar keine* eigene Erfahrung gehabt, und auch in obiger Arbeit ist er nur in der Lage, über einen einzigen Paratyphus A-Fall zu berichten, während wir unter unseren 16 Paratyphus A-Kranken Roseolen von 5 Paratyphus A-Kranken untersuchen konnten. Unsere Untersuchung war demnach nicht überflüssig, sondern dringend erwünscht und hat zweifellos eine Lücke auszufüllen gehabt; nur jene Ärzte, die während



des Weltkrieges unter oft trostlosen Verhältnissen im Felde gearbeitet haben, können die Schwierigkeiten ermessen, unter denen die seltenen, früher unbekannt gewesenen Infektionen diagnostiziert werden konnten, und werden die Mühe richtig einschätzen können, die auch unter solchen Bedingungen aufgewendet wurde, um zur Klarheit zu gelangen und Tatsachen festzustellen, die für die Wissenschaft von Bedeutung sein konnten.

Nun zu einem 2. Punkte. Wenn auch „die Möglichkeit, daß es sich um solche (i. e. Paratyphus A-Fälle) gehandelt hat, nicht in Abrede gestellt werden soll", meint *Fränkel* doch, daß es sich nicht mit Sicherheit um solche Fälle gehandelt haben muß, von denen wir Roseolen excidiert haben; zu dieser subjektiven Auffassung wird *Fränkel* durch die Ansicht geführt, daß nur jene Roseolen als spezifische Typhus- oder Paratyphusroseolen anzusehen sind, bei denen durch Bebrütung der excidierten Hautstückchen das Auffinden der Krankheitserreger in den Hautgeweben gelungen ist.

Bisher war man gewohnt, durch entsprechende Verwertung der einwandfrei durchgeführten serologischen und bakteriologischen Untersuchungsmethoden einen Infektionskranken als typhus- oder paratyphuskrank zu klassifizieren und naturgemäß auch die vorhandenen Roseolen als mit diesen Krankheiten im Zusammenhang stehend, als Typhus- oder Paratyphusroseolen zu charakterisieren. Auf nähere Details brauche ich hier nicht einzugehen; es wurde gewiß nichts unterlassen, um die Diagnose Paratyphus A serologisch oder bakteriologisch einwandfrei zu sichern (positive Gallenkultur oder einwandfrei ansteigender Widal), die ausführliche Verwertung des gesamten Materials geschieht noch an anderer Stelle. *Fränkel* sieht doch auch eine Fleckfieberroseole auf Grund des histologischen Bildes als spezifisch an, *ohne* den Erreger in der Roseole nachzuweisen.

Ob nun *Fränkel* die uns von Prof. *Kyrle* freundlichst überlassene Abbildung als typisch für Fleckfieber anerkennt oder nicht, hat keinen Einfluß auf die Deutung des histologischen Bildes bei Paratyphus A und auf unsere bescheidenen, aber absolut feststehenden Schlußfolgerungen, daß nämlich die Möglichkeit besteht, „durch die histologische Untersuchung zwar nicht mit Sicherheit Paratyphus A zu diagnostizieren, wohl aber diese klinisch als Fleckfieber imponierenden Fälle gegen letztere Erkrankung mit Bestimmtheit abzugrenzen".



Erwiderung auf vorstehende Bemerkungen über Roseola paratyphosa.

Von

Prof. Eugen Fraenkel,
Direktor des Pathologischen Instituts der Hamburgischen Universität.

Durch das Entgegenkommen der Herausgeber der Zeitschrift ist es mir möglich, auf die vorstehende Arbeit des Herrn Dr. *Nobel* sofort zu antworten, ohne daß ich zu einem anderen Resultat gelangt bin, als dem in meiner von Herrn Dr. *Nobel* zitierten Arbeit ausgesprochenen, daß die Untersuchungen des Herrn *Nobel* und seines Mitarbeiters *Zilczer* tatsächlich nicht erforderlich waren. Hatte ich doch schon im Jahre 1915 und 1916, also mehrere Jahre vor dem Erscheinen ihrer Mitteilung, festgestellt, daß Fleckfieber- und Paratyphusroseolen völlig voneinander verschieden sind, und daß man zwar in der Lage ist, aus dem mikroskopischen Bild die Diagnose auf Fleckfieber zu stellen, keineswegs aber auf Typhus bzw. Paratyphus. Denn die bei diesen sich in Roseolen zeigenden geweblichen Veränderungen sind eben uncharakteristisch, und nur der Nachweis der Krankheitserreger in ihnen gestattet die Diagnose auf Typhus bzw. Paratyphus. — Die Untersuchungen des Herrn *Nobel* und seines Mitarbeiters haben also nichts wesentlich Neues gebracht. Auf die Bemerkung des Herrn *Nobel*, „daß ich doch auch eine Fleckfieberroseole auf Grund des histologischen Bildes als spezifisch ansehe, ohne den Erreger in der Roseole nachzuweisen", möchte ich erwidern, daß wir einstweilen den Erreger des Fleckfiebers nicht kennen und ihn deshalb auch in den Roseolen nicht sehen können. Aber hier sind eben die geweblichen Veränderungen so charakteristisch, daß sie für die Fleckfiebererkennung ausreichen. Für (Typhus- und) Paratyphusroseolen liegen die Dinge umgekehrt. Der histologische Befund gestattet *überhaupt* nicht, nicht wie Herr *Nobel* schreibt, nicht mit Sicherheit, Paratyphus A zu diagnostizieren. Zu einer Verwechslung mit Fleckfieberroseolen geben sie für den Kundigen niemals Anlaß.



(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel [Vorsteher: Prof. *R. Doerr*].)

Über das Verhältnis der Fraktionsspezifität zur Artspezifität bei den Eiweißkörpern der Blutsera.

Von

R. Doerr und W. Berger.

Die Eiweißkörper, welche sich durch fraktioniertes Aussalzen mit Ammonsulfat aus einem bestimmten Blutserum abscheiden lassen, differieren voneinander durch ihre Antigenfunktionen. Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin aus Pferdeserum besitzen eigenartige Spezifitäten, die sich im anaphylaktischen Experiment nachweisen lassen (*Doerr* und *Russ*, *Dale* und *Hartley*, *Doerr* und *Berger*), und die man vorderhand zwecks leichterer Verständigung als „*Fraktionsspezifitäten*" bezeichnen kann. Globuline und Albumine (von derselben Tierart stammend) unterscheiden sich aber auch durch ihre biologische Aktivität oder — wie man das auch ausdrücken darf — durch die „*Intensität ihrer antigenen Wirkung*", indem die Globuline gegenüber den Albuminen durch eine kürzere *Latenzperiode*, durch geringere *sensibilisierende Minimaldosen* und durch die höhere *schockauslösende Kraft* ausgezeichnet sind (*Dale* und *Hartley*, *Doerr* und *Berger*); besonders deutlich tritt die *Dominanz* der Globuline über die Albumine ***im Konkurrenzversuch*** nach der Methode von *Benjamin* und *Witzinger* hervor, indem größere Globulinquanten die sensibilisierende Wirkung kleiner, aber an sich optimaler Albuminmengen völlig unterdrücken, während Globulin selbst durch einen beträchtlichen Überschuß gleichzeitig einverleibten Albumins nicht beeinträchtigt wird (*Doerr* und *Berger*).

Nun zeigen Vollsera das Phänomen der sog. Artspezifität, das wie bei allen Immunitätsreaktionen auch im anaphylaktischen Experiment deutlich zum Ausdruck gelangt, und dessen Geltungsbereich wohl als allgemein bekannt vorausgesetzt werden darf. Nach den eingangs angeführten Ergebnissen bedurfte diese Artspezifität einer erneuten Untersuchung in mehrfachen Belangen. Zunächst mußte ermittelt werden, welche Eiweißfraktion eines Blutserums der Träger der artspezifischen Charaktere ist. Es bestanden hier offenbar mehrere Möglichkeiten. Daß die Globuline artspezifisch sein würden, war allerdings a priori gewiß. Infolge ihrer biologischen Aktivität treten sie überall in den Vordergrund, und die Immunisierung mit Vollserum liefert zunächst stets Antiglobuline, wie das bereits *Doerr* und *Russ* an einzelnen Beispielen (frei-



lich noch ohne Kenntnis aller hier in Betracht kommenden Zusammenhänge) erläutert haben. Da man den Begriff der Artspezifität aus Immunitätsreaktionen abgeleitet hatte, bei denen Vollserum als Antigen benützt worden war, so durfte die Artspezifität der Globuline als gesichert gelten; es wäre höchstens denkbar gewesen, daß die Aussalzung an den natürliehen Verhältnissen etwas ändert, d. h. daß das Globulin als isolierte Fraktion ein anderes Quale repräsentiert als im Verbande des gesamten Serumeiweißes, doch war selbst dieser Einwand hinfällig, da man ja mit Globulin gegen Vollserum und mit Vollserum gegen Globulin sehr gut sensibilisieren kann.

Bei den Albuminen lagen die Dinge wesentlich anders. Bei parenteraler Zufuhr von Vollserum entstehen Antikörper gegen Albumin erst spät und nach wiederholten Injektionen; andererseits besagt das Gesetz von *Magnus*, daß forcierte, oft wiederholte Einspritzungen die Spezifität der Antikörper einschränken, so daß die gewonnenen Immunsera nicht nur auf das homologe, sondern auch auf heterologe Proteine einwirken. So haben *Doerr* und *Russ* schon 1909 ein Antihammelserum beschrieben, welches von einem sehr lange immunisierten Kaninchen herrührte, und das nicht nur mit Hammelserum, sondern auch mit Ziegen-, Rinder-, Schweine-, Menschen- und Pferdeserum ausflockte und gegen alle aufgezählten Serumarten passiv präparierte. Später (1920) berichteten dann insbesondere *Friedberger* und *Jarre* über solche „aspezifische" präcipitierende Antikörper. So schien es durchaus nicht unberechtigt, bei den Albuminen ein anderes Verhalten wie bei den Globulinen zu erwarten bzw. einen Teil der Beobachtungen, die der Artspezifität widersprachen, auf die fehlende oder geringere Artspezifität der Albumine zu beziehen.

Endlich bot die Möglichkeit besonderes Interesse, Fraktionsspezifität und Artspezifität dem *Grade* nach zu vergleichen, um dadurch vielleicht zu neuen Einsichten in die Beziehungen der Eiweißfraktionen zueinander zu gelangen.

Von diesen Gesichtspunkten geleitet haben wir einen großen Versuch in der Weise angesetzt, daß wir zwei Serien von Meerschweinchen sensibilisierten, die eine durch subcutane Injektion einer optimalen Menge Euglobulin aus Pferdeserum (0,0008 g), die andere mit Albumin aus dem gleichen Serum, und zwar geichfalls mit einer optimalen Dosis (0,0008 g). Das Albumin enthielt die zwischen 66 und 99% Sättigung mit Ammonsulfat ausfallenden Anteile der Pferdeserumproteine; es entsprach also der in unseren früheren Mitteilungen beschriebenen D-Fraktion. Nach 21 Tagen wurde die Überempfindlichkeit dem Grade nach bestimmt, und zwar bei der *Globulinserie* durch intravenöse Reinjektion fallender Mengen von Pferde-, Rinder-, Schweine-, Kanincheneuglobulin und von Pferdealbumin. Bei der *Albuminserie* wurden zu den Reinjektionen



verwendet: Pferde-, Rinder-, Schweine-, Kaninchenalbumin (und zwar stets die D-Fraktionen) und (zur Prüfung der Fraktionsspezifität) Euglobulin aus Pferdeserum. Nachstehende Zusammenstellung läßt die Resultate unschwer erkennen.

I. Euglobulinserie.

Meerschweinchen, präpariert mit 0,0008 g Pferdeeuglobulin, nach 21 Tagen intravenös reinjiziert mit:

Gewicht des Tieres	Injizierte absolute Menge	Injizierte Menge pro 100 g Tiergewicht	Resultat
	A. Pferdeeuglobulin.		
370 g	0,07 g	0,019 g	† in 3′
370 „	0,007 „	0,0019 „	† in 3′
410 „	0,0035 „	0,00085 „	† in 3′
370 „	**0,00175** „	**0,00047** „	**s. S., † in 2 Stunden.**
350 „	0,000875 „	0,00025 „	l. S., Dyspnöe überlebt.
410 „	**0,0007** „	**0,00017** „	**† in 5′**
	B. Rindereuglobulin.		
410 g	0,098 g	0,024 g	θ
460 „	0,074 „	0,016 „	θ
	C. Schweineeuglobulin.		
360 g	0,128 g	0,035 g	θ
440 „	0,076 „	0.017 „	θ
	D. Kanincheneuglobulin.		
360 g	0,1 g	0,027 g	θ
	E. Pferdealbumin.		
405 g	0,072 g	0,018 g	θ
360 „	0,036 „	0,01 „	θ

II. Albuminserie.

Meerschweinchen, subcutan präpariert mit 0,0008 g Albumin (D-Fraktion) aus Pferdeserum, nach 21 Tagen intravenös reinjiziert mit:

Gewicht des injizierten Tieres	Injizierte absolute Menge	Injizierte Menge auf 100 g Lebendgewicht	Resultat
	A. Pferdealbumin (D-Fraktion).		
370 g	0,018 g	0,0048 g	† 3′
370 „	0,0145 „	0,0039 „	† 3′
400 „	0,009 „	0,0022 „	† 3′
410 „	0,0045 „	0,0010 „	† 3′
360 „	**0,0027** „	**0,0007** „	**† 3′**
410 „	0,00145 „	0,00035 „	l. protr. S.
	B. Rinderalbumin (D-Fraktion).		
400 g	0,168 g	0,042 g	l. protr. S.
400 „	0,084 „	0,021 „	θ
	C. Schweinealbumin (D-Fraktion).		
300 g	0,12 g	0,04 g	θ
350 „	0,06 „	0,017 „	θ



D. Kaninchenalbumin (D-Fraktion).

Gewicht des injizierten Tieres	Injizierte absolute Menge	Injizierte Menge auf 100 g Lebendgewicht	Resultat
350 g	0,102 g	0,029 g	etwas Juckreiz
350 „	0,068 „	0,019 „	θ
E. Pferdeeuglobulin.			
400 g	0,14 g	0,035 g	θ
260 „	0,07 „	0,026 „	θ
380 „	0,035 „	0,0092 „	θ

In beiden Serien wurde schließlich auch noch die Empfindlichkeit gegen Pferdevollserum titriert; die verwendete Serumprobe enthielt 6,6% Gesamteiweiß, wovon 3,6% auf die Globuline, 3% auf die Albumine entfielen. Es ergaben sich folgende Reihen:

I. Empfindlichkeit der Euglobulintiere gegen Pferdevollserum.

Tiergewicht	Injiziertes Serumvolum	Injizierte Menge Gesamteiweiß (absolute Menge)	Injizierte Menge Totalglobulin (absolute Menge)	Resultat
390 g	0,1 ccm	0,006 g	0,0036 g	† 5′
400 „	0,075 „	0,0045 „	0,0027 „	† 10′
300 „	0,05	0,0033 „	0,0018 „	† 4′
400 „	0,05 „	0,0033 „	0,0018 „	5. 5, überlebt
400 „	0,03 „	0,0018 „	0,0011 „	† in 1 Stunde
400 „	**0,02** „	**0,0012** „	**0,0007** „	**† 5′**
370 „	0,015 „	0,0009 „	0,00054 „	θ
440 „	0,01 „	0,0006 „	0,00036 „	θ

II. Empfindlichkeit der Albumintiere gegen Pferdevollserum.

			Totalalbumin (absolute Menge).	
370 g	0,3 ccm	0,018 g	0,009 g	† 5′
350 „	0,2 „	0,012 „	0,006 „	† 7′
380 „	0,1 „	0,0066 „	0,003 „	† 7′
360 „	0,075 „	0,0045 „	0,0023 „	† 3′
350 „	0,05 „	**0,003** „	**0,0015** „	**† 5′**
370 „	0,05 „	0,003 „	0,0015 „	f. θ
350 „	0,025 „	0,0015 „	0,00075 „	θ

Zusammenfassung.

Die einzelnen, durch fraktionierte Aussalzung mit Ammonsulfat darstellbaren Eiweißkörper der Warmblütersera besitzen eine **doppelte Spezifität**: die **Fraktions-** und die **Artspezifität.** Die Artspezifität ist bei den schwer aussalzbaren (zwischen 66 und 99% Sättigung ausfallenden) *Albuminen ebenso ausgeprägt wie bei den Globulinen;* wenigstens konnte zwischen den hier untersuchten Serumalbuminen vom Pferde, Schwein, Rind und Kaninchen im aktiv anaphylaktischen Experiment **keine „Gruppenreaktion“** festgestellt werden, selbst wenn man von den heterologen Albuminen das 50—80fache Multiplum der letalen Dosis des homologen Albumins intravenös injizierte.



Dem Grade nach war die **Fraktionsspezifität,** wie sie sich beim Euglobulin und beim schwer aussalzbaren Albumin des Pferdeserums im gekreuzten aktiv anaphylaktischen Versuch nachweisen ließ, **ebenso groß wie die Artspezifität,** durch welche sich die hier untersuchten Globuline (oder Albumine) des Pferdes, des Schweines, des Rindes und des Kaninchens voneinander unterscheiden. *Die Ausprägung der Spezifitätscharaktere bietet somit keine Handhabe, für die Fraktionsspezifität andere Grundlagen als für die sog. Artspezifität anzunehmen; wahrscheinlich sind beide im* **chemischen** *Bau der betreffenden Proteine begründet.* Da Globuline und Albumine eines und desselben Blutserums sowohl art- als fraktionsspezifische Eigenschaften besitzen, müssen wir eine *Koexistenz zweier, voneinander bis zu einem gewissen Grade unabhängiger, die beiden Spezifitäten bedingenden Gruppen im Molekül der reinen Eiweißkörper* annehmen. Ob es möglich ist, die eine von den beiden Gruppen, welche der Antigenfunktion spezifische Richtungen verleihen, zu beeinflussen, ohne die andere zu schädigen, müssen weitere Studien lehren.

Die fraktionsspezifischen Antigene sind *keine durch das Aussalzen (oder anderweitige Zerlegungen) der Gesamtproteine der Blutsera erzeugten Artefakte*, sondern sind als solche im Vollserum vorhanden, denn die Sensibilisierung mit fraktionsspezifischem Euglobulin oder mit fraktionsspezifischem Albumin macht die Meerschweinchen gegen das zugehörige Vollserum überempfindlich, und die letalen Dosen Vollserum entsprechen im allgemeinen dem Gehalte des Vollserums an Globulin bzw. an Albumin. In unseren Versuchen betrug z. B. die tödliche Menge Vollserum für Euglobulintiere 0,02 ccm; in diesem Volum waren 1,2 mg Gesamteiweiß, aber nur 0,7 mg Totalglobulin vorhanden, womit die für isoliertes Euglobulin ermittelte minimale Schockdosis von 0,7 mg sehr gut übereinstimmt. Man muß eben berücksichtigen, daß das Pseudoglobulin mit Euglobulin Verwandtschaftsreaktionen liefert und somit als schockauslösende Komponente des Vollserums in Rechnung zu stellen ist, wenn man letzteres auf mit Euglobulin präparierte Meerschweinchen einwirken läßt. Für die mit der D-Fraktiom sensibilisierten Tiere war die Übereinstimmung weniger genau (letale Dosis Vollserum 0,05 ccm = 3,3 mg Gesamteiweiß = 1,5 mg Totalalbumin; letale Dosis der isolierten D-Fraktion 2,7 mg), doch lagen die beobachteten Differenzen innerhalb der Fehlergrenzen solcher Titrationen im anaphylaktischen Reihenversuch.

Literaturverzeichnis.

Doerr und *Russ*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. **3**, 181. **1909**. — *Dale* und *Hartley*, Biochem. journ. **10**, 408. 1916. — *Doerr* und *Berger*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1922. — *Doerr* und *Berger*, Klin. Wochenschr. **1**, Nr. 19. 1922 u. Biochem. Zeitschr. 1922. — *Friedberger* und *Jarre*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig., **30**, 351. 1920.



(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg. [Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. *Nocht.* Abteilungsvorsteher: Professor Dr. *Martin Mayer*].)

Morphologische Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Heilmittel auf Trypanosomen.

Von

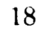
Dr. P. Steffan,

Marinestabsarzt, kommandiert zum Institut.

Mit 1 Textabbildung und Tafel I.

Wenn man die Trypanosomenliteratur einer Durchsicht unterzieht, so fällt es auf, daß unter der großen Zahl derjenigen Arbeiten, welche sich mit den chemotherapeutischen Fragen beschäftigen, eigentlich keine zu finden ist, die in *systematischer* Weise die zweifellos außerordentlich interessanten Veränderungen an den durch Heilmittel angegriffenen Trypanosomen zur Darstellung brächte. Um nun einen gewissen Anfang mit der Untersuchung dieser Frage zu machen, beauftragte mich Herr Prof. Dr. *M. Mayer*, eine größere Zahl von mehr oder minder wertvollen Trypanosomenheilmitteln aus verschiedenen chemischen Reihen sowie normales Menschenserum an einigen tierpathogenen Trypanosomen zu prüfen und *rein morphologisch* auf der Grundlage des durch *Giemsafärbung* gewonnenen Bildes zu versuchen, die Wirkung der einzelnen Mittel auf die Trypanosomenzelle zu verfolgen.

Der Hauptgrund, weshalb derartige Arbeiten nicht schon im großen durchgeführt worden sind, dürfte in der Tatsache zu suchen sein, daß allen derartigen morphologischen, auf färberische Methoden allein gegründeten Untersuchungen der ganz erhebliche Nachteil anhaftet, daß es äußerst gewagt ist, bei der kritischen Auswertung eines Bildes oder einer Bildreihe Schlüsse mikrochemischer Art bezüglich des Aufbaues und der Funktion der Zelle und ihrer Organe zu ziehen oder gar solche Schlüsse zu verallgemeinern. Um einigermaßen brauchbare Ergebnisse zu erzielen, bedarf es schon sehr umfangreicher Versuche, aus denen man vielleicht das allen gleichgearteten Gemeinsame als positives Ergebnis wird buchen dürfen; zufällige Einzelbefunde müssen, vor allem, wenn sie sich in Kontrollversuchen unter denselben Bedingungen nicht wiederholen, mit großer Wahrscheinlichkeit als sogenanntes Kunstprodukt angesehen und aus der weiteren Betrachtung ausgeschieden





werden. Die wirklich positiven Ergebnisse werden natürlich bei dieser strengen Kritik nur außerordentlich spärlich sein und in einem recht großen Mißverhältnis zu der aufgewandten Arbeit stehen; auch dies ist wohl ein Grund dafür, daß sich so selten jemand mit der Frage befaßt. Aber ich bin der festen Überzeugung, daß es gelingen wird, durch Ausbau der einzelnen im folgenden skizzierten Versuche wenigstens für einige Heilmittel einen genügenden Einblick in die biochemischen Verhältnisse zu gewinnen, um das im allgemeinen gut bekannte Bild von der rein pharmakologischen Wirkung in vivo und in vitro vorteilhaft zu ergänzen.

Ich habe daher in dieser Arbeit versucht, mich bei der kritischen Besprechung der Versuchsergebnisse größter Zurückhaltung zu befleißigen. Und wenn ich auch glaube, bei einzelnen der 11 untersuchten Mittel wenigstens einen Grundtypus für die Wirkung erkannt zu haben, so werde ich dies i. a. nur kurz vermerken; in dem einen oder anderen Fall allerdings dürfte ein einwandfreies Ergebnis auch zu eindeutigen Schlüssen berechtigen.

Die Arbeit stützt sich auf 78 Haupt- und eine Anzahl von Nebenversuchen, in denen folgende Mittel untersucht wurden:

A. Als Vertreter von Arsen und Antimon:
   Atoxyl, Tartarus stibiatus, Stibenyl;
B. parachinoiden Triphenylmethanfarbstoffe:
   Parafuchsin, Tryparosan;
C. Acridinfarbstoffe:
   Flavicid, Trypaflavin;
D. der Safraninfarbstoff:
   Trypasafrol;
E. der Benzidinfarbstoff:
   Trypanrot;
F. „Bayer 205";
G. normales Menschenserum.

Die Mittel wurden ausschließlich in vivo an künstlich infizierten Mäusen (meist auf dem Höhepunkt der Infektion) geprüft, und zwar jeweils an

Trypanosoma equiperdum (Dourine),
Trypanosoma brucei (Nagana) und
Trypanosoma equinum (M. de Caderas).

Fast durchweg wurde ein Blutausstrich unmittelbar vor der Einspritzung des Heilmittels angefertigt zur Kontrolle über etwa bereits vorhandene Veränderungen der Trypanosomen und über den Grad ihrer Lebensenergie (Nachweis von Degenerationsformen sowie etwa vorhandenen Teilungsbestrebens). Wie wichtig diese Maßnahme ist, wird sich im Laufe der Besprechung noch zeigen. Die Versuche wurden



stets nach denselben Grundsätzen durchgeführt: Subcutane Verabreichung des auf 20 g Mausgewicht berechneten Mittels in entsprechender Lösung; Anfertigung von Blutausstrichen in bestimmten, durch die Wirkungsgeschwindigkeit des betreffenden Mittels vorgeschriebenen Zeitabständen; mindestens $^1/_2$ Stunde Fixieren in absolutem Alkohol im Standgefäß; Giemsafärbung $^1/_2$ Stunde mit gleichartiger Lösung und möglichst gleichartigem Verdünnungswasser.

Bei der mir zur Verfügung stehenden Zeit mußte ich mich auf die Untersuchung des kreisenden Blutes allein beschränken, obwohl es nicht ausgeschlossen ist, daß die Erreger sich bei vorübergehend geheilten Tieren in inneren Organen, vielleicht auch außerhalb der Blutbahn im Körper aufhalten und hier mit dem Aufhören der schädigenden Arzneiwirkung allmählich regenerativ die Eigenschaften wieder erlangen, welche sie zu neuem Ausschwärmen ins peripherische Blut befähigen. Ich werde diese Frage für sich weiter verfolgen. Aus denselben äußeren Gründen mußte ich mich auf eine einzige Färbemethode beschränken, obgleich gerade der parallele Vergleich mehrerer den Wert der Untersuchungen ungleich erhöht hätte. Solche Paralleluntersuchungen müssen monographischen Einzeluntersuchungen über das eine oder das andere Heilmittel vorbehalten bleiben und hätten den Rahmen dieser Übersicht erheblich überschritten. Vor allem von der Feuchtfixierung und von der Lebenduntersuchung kann man sich noch erhebliche technische Vorteile versprechen.

Eine große Anzahl von Trypanosomen wurde gemalt, wobei ich mich keines Zeichenapparates bediente, da es hauptsächlich auf die Darstellung der eingetretenen Veränderungen und weniger auf die Wiedergabe der genauen (absoluten) Maße ankam.

Die Ergebnisse.

Aus Gründen der Raumersparnis sehe ich mich gezwungen, das umfangreiche Versuchsprotokoll nicht zu veröffentlichen. In der nunmehr folgenden Besprechung der Ergebnisse beschränke ich mich darauf, nur diejenigen Tatsachen zu erwähnen, welche zweifellos als unmittelbare oder mittelbare Heilmittelwirkung betrachtet oder doch zwanglos als solche gedeutet werden können.

1. Atoxyl.

(Vers. 2—6, 8, 10, 20, 21, Abb. 1—34, Tafel I.)

Kommt Atoxyl in heilender Dosis zur Anwendung bei Dourine und Mal de Caderas, so entwickeln sich im Laufe von 12 Stunden im Protoplasma immer zahlreicher und größer werdende *Körner*, bzw. es vermehrt sich die Zahl der in manchen Fällen auch ohne Behandlung schon gegen Ende des Lebens des Versuchstieres (Vers. 10, 6. Infektionstag, Abb. 1) aufgetretenen Körner. Diese sind bei Tryp. equiperdum



in 1—2 Reihen perlschnurartig angeordnet und bevorzugen das Vorderende (Geißelende) (Abb. 9), also den zwischen Kern und Geißelende gelegenen Protoplasmaraum. In selteneren Fällen ist die Verteilung auf beide „Hälften" des Trypanosoms eine gleichmäßige (Abb. 13), in noch selteneren ist sie umgekehrt. Sind zwei Körnerreihen ausgebildet, so liegt diejenige, welche die meisten Körner enthält, an dem dem Randfaden gegenüberliegenden Saum, die andere dicht daneben nach innen, aber den Zellkern auf der *anderen* Seite umfassend (Abb. 13). Bei Tryp. brucei ist das *Protoplasma* schon nach ganz kurzer Frist *geschädigt* und zeigt sich deutlich schon nach $^1/_2$ Stunde als sog. *Schaumplasma* (Abb. 20, 21), außerdem ist bei Tryp. brucei von der 3., bei Tryp. equiperdum von etwa der 6. Stunde ab die Färbbarkeit des Protoplasmas herabgesetzt. Etwas später, etwa nach 3 Stunden, zeigt sich in zunehmender Deutlichkeit eine *Kernschädigung*, welche schließlich das Bild beherrscht (Abb. 23). Dagegen scheint der Kern bei dem im Vers. 10 geprüften Tryp. equiperdum bis zuletzt intakt zu bleiben. Bei Tryp. equinum verläuft die Wirkung unter dem Bild einer gleichzeitig mit Kernschädigung (Chromatinauflösung, sichtbar nach 2 Stunden) einhergehenden anfänglichen Körnerbildung im Protoplasma. Sie erreicht ihren Höhepunkt nach etwa 6 Stunden (Abb. 27—30); von da ab vermindert sich ebenso, wie bei Tryp. equiperdum von etwa der 9. Stunde ab, die Zahl der Körner und ihre Dicke. Bilder wie Abb. 25 bis 27 scheinen auf eine *Ausstoßung* der einzelnen Körner am Hinterende zu deuten, und es bleiben nur wenige kleine, ganz unregelmäßig im Protoplasma verstreute, scharf konturierte Granula (Abb. 30, 32, 33), mitunter auch einzelne riesige Schollen zurück, welche sich sehr intensiv dunkelschwarzblau färben (Abb. 31). Daß es sich bei den beschriebenen Körnern um *Volutin* handelt, ist ohne weiteres klar. Sie sammeln sich an und stauen sich im Protoplasma während des ganzen Verlaufes des (hier) durch die Vergiftung hervorgerufenen Depressionszustandes der Zelle und damit des Kerns, bis sie schließlich in der degenerierten Zelle sich selbst anscheinend zurückbilden und auch zahlenmäßig abnehmen (Abb. 10—12, 14—18). Im übrigen sei auf *Reichenows* Theorie[23]) verwiesen. Die Bilder unterscheiden sich nicht von denen, welche man auch in unbehandelten Fällen kurz vor oder nach dem Tode des Wirtstieres findet[1]), und für die dieselben Gesetze sich aus einer ähnlichen allgemeinen Verschlechterung der Lebensbedingungen für die Schmarotzer ableiten lassen.

Beim Betrachten einiger — im Präparat ziemlich häufiger — Bilder könnte man, wie schon oben bei Tryp. equinum erwähnt, glauben, daß ein Teil der Körner am Hinterende ausgestoßen wird; solche Bilder wurden nur vor der Behandlung (Abb. 1, 25) und bis zu etwa 2 Stunden nach derselben (Abb. 26, 27) gefunden. Ähnlichen Bildern werden wir



später wieder, z. B. beim Trypaflavin, begegnen. Falls die unbewiesene, aber durch die später noch zu beschreibenden Breitformen des Hinterendes verständlicher gemachte Annahme einer Ausstoßung überhaupt zutrifft, so wäre das Nächstliegende, anzunehmen, daß in den Körnern eine Anreicherung des Giftes stattfindet (Funktion von Excretionsorganen); eine solche Tätigkeit ist bei dem mit aktiven Kräften ausgestatteten Volutinkorn wenigstens denkbar. In dem Versuch mit Tryp. equiperdum (8. Infektionstag!) scheint es denn auch, als ob die reichliche Volutinkörnerbildung die (bei mehreren Versuchen mit Tryp. brucei und equinum offenkundige) Kernschädigung hintangehalten habe. Daß die Volutinkörner sich hierbei, je näher sie dem Hinterende rücken, nicht nur vergrößern, sondern sich anscheinend auch zu Tropfen verflüssigen können, zeigen Bilder, welche, wie die in den Abb. 154—157 dargestellten, unter starker Trypaflavinwirkung entstanden sind.

Die frühzeitige *Schrumpfung* des protoplasmatischen Anteils des Bewegungsapparates, der *undulierenden Membran* (Abb. 8—15, 23, 31—34) weist wohl ebenfalls auf die Tatsache primärer Protoplasmaschädigung durch das Atoxyl hin.

Schließlich muß ich noch einer kleinen Gruppe von Bildern Erwähnung tun, welche man als *Blähformen* bezeichnen kann, und welche die letzten bei der Atoxylvergiftung im Gefäßblut noch nachweisbaren Degenerationsstadien der Trypanosomen bilden (Abb. 14, 15). Bei ihnen ist der ganze Zelleib, mindestens aber die Hinterendgegend, ganz erheblich „aufgetrieben“ und enthält nicht selten eine große Vakuole im Innern. Diese Formen sind mechanischen Insulten gegenüber sehr empfindlich, denn man findet gleichzeitig eine Menge am Hinterende aufgeplatzter Trypanosomen (Abb. 16—18), aus welchen sich der organisierte Zellinhalt, Kern und Granula, ergossen hat; der Umstand, daß diese letztgenannten Formen fast ausschließlich am Ausstrichende, zum Teil auch am Ausstrichrand liegen, weist darauf hin, daß die geblähten Trypanosomen beim Ausstreichen rein mechanisch zum Aufplatzen gebracht werden.

Das Atoxyl wurde in Dosen von etwa 0,005/20 g Maus angewandt, die von *Teichmann* (Biochem. Zeitschr. 81, 284ff.) angegebene Dosis von 0,003 also (absichtlich) überschritten; trotzdem erlitten mehrere Tiere, meist erst nach Wochen, Rückfälle, die Mehrzahl, darunter eine Maus mit 0,006/20 g, wurden dauernd geheilt. Wenn diese Beobachtung quoad sterilisationem auch außerhalb des Bereichs meiner Arbeit lag, so möchte ich doch erwähnen, daß bei Anwendung der gleichen absoluten Menge Atoxyl die sterilisierende Wirkung für das Blut bei Nagana in 6—10 Stunden eintrat, bei Mal de Caderas in 12—22 Stunden (Nebenbefund nach 9 Stunden bei Vers. 7: eine einzige Grahamella); bei Dourine wurde nach 13 Stunden ein Stadium mit ausschließlichen



Degenerationsformen erzielt, der Verlauf nicht weiter verfolgt. Bei einem nicht abgebildeten Versuch (Vers. 5) kam es nach etwa 5 Stunden zur Bildung der von *Moore* und *Breinl*[18]) als „Cysten“ beschriebenen Abkugelungsformen, welche noch mehrfach bei anderen Mitteln, bei Atoxyl aber nur dieses eine Mal gesehen wurden. Eigentümlicherweise verschwanden die Degenerationsformen der Naganaerreger nach etwa 5 Stunden völlig aus dem Kreislauf, in welchem bis zum Negativwerden des Blutes (10. Stunde) nur noch normal aussehende Flagellaten in spärlicher Zahl zu finden waren.

Nach dem Ergebnis meiner Versuche halte ich daher die bisher allgemein vertretene Ansicht, wonach Atoxyl als Protoplasmagift wirkt, auch morphologisch für erwiesen.

2. *Tartarus stibiatus.*

(Vers. 19, 14, 17, 23. Abb. 35—65.)

Ähnlich wie in dem für Atoxyl festgestellten Befund gestaltet sich die Auswertung der morphologischen Verhältnisse bei den beiden daraufhin geprüften Antimonpräparaten, dem *Brechweinstein* (Tartarus stibiatus) und dem *Stibenyl*, einfach und *eindeutig*. Dies ist insofern nicht ohne Interesse, als gerade in den letzten Jahren nach englischem Vorgang*) die Sb.-Therapie bei allen Trypanosomenerkrankungen weitaus in den Vordergrund getreten ist und erst in neuester Zeit im „Bayer 205“ einen erfolgreichen Wettbewerber gefunden hat. Jedenfalls werden aber auf absehbare Zeit hinaus die Antimonpräparate wegen ihrer sicheren Wirkung bei den *tierischen* Trypanosomenkrankheiten einen hervorragenden Platz im Rüstzeug des Tropenarztes und Tropenveterinärs behaupten und auch wohl zur Unterstützung bei der Behandlung der menschlichen Schlafkrankheit weiterhin eine wichtige Rolle spielen. Mit um so größerem Interesse wird man daher einen Einblick in die morphologischen Veränderungen zu gewinnen bestrebt sein, welche dieses in der Gestalt des Tartarus stibiatus bisher wichtigste Heilmittel der Tropenmedizin bei den Trypanosomen erzeugt. Entsprechend dem klaren Befund kann ich mich bei der Besprechung der Versuchsergebnisse kurz fassen:

Der *Brechweinstein* kam in Dosen von 0,00033 bis 0,00066/20 g Maus zur Anwendung und hat eine spezifisch zu nennende *primär kernschädigende Wirkung*, bei welcher das Chromatin zum Zerfall gebracht wird. Was das Mittel aus der ganzen Reihe der übrigen von mir hier untersuchten Arzneimittel vorteilhaft heraushebt, das ist die *enorme Schnelligkeit*, mit welcher es diese morphologisch erkennbare Wirkung ausübt; sie läßt sich *bereits nach einer halben Stunde* außerordentlich deutlich

*) *Plimmer* und *Thomson*, 1907.



(Abb. 35—40, 57—60) feststellen. Quantitative Beziehungen zu konstruieren, schien mir nicht angebracht, da die stärkste Kernwirkung, bei welcher deutlich ein Teil des Chromatins verflüssigt und bläschenförmig bis schaumig umgestaltet ist, gerade in einem Fall (Vers. 23) auftrat, bei welchem die geringste Dosis, 0,00033/20 g Maus, zur Anwendung gekommen war.

Bezüglich der Schnelligkeit der Wirkung kommt dem Tartarus stibiatus nur das ebenfalls untersuchte Menschenserum nahe.

Abkugelungsformen (die „Cysten" von *Moore* und *Breinl*) bilden sich nachweisbar schon nach $^{1}/_{2}$ Stunde, doch bleiben die Fälle von Abkugelung — wie auch beim Atoxyl — sehr selten und auf Tryp. equiperdum (Abb. 37—40) beschränkt; die große Mehrzahl der Trypanosomen geht unter *Beibehaltung der langgestreckten Körperform*, wenn auch meist erheblich deformiert, zugrunde (Abb. 43—45, 47—52, 57—65). Ich kann mich des Eindruckes nicht erwehren, daß im Gegensatz zu der Wirkung anderer Mittel die Trypanosomen bei der Anwendung von Atoxyl und von Tartarus stibiatus rasch so erhebliche Schädigungen erleiden, daß sie nur selten und anscheinend nur im *Beginn* der Giftwirkung, solange die Resorption noch nicht vollkommen ist und die Einwirkung noch nicht lange angedauert hat, imstande sind, sich abzukugeln. Während des Verlaufes der Vergiftung zeigt sich weiterhin eine auffallende Tatsache. Die erheblich geschädigten, vielleicht erst die abgestorbenen Trypanosomen werden frühzeitig aus dem Kreislauf eliminiert, und es bleiben schließlich bis zum Verschwinden der letzten nur spärliche, mehr oder minder *normal* aussehende Trypanosomen zurück. Ob es sich dabei, wie es bei anderen Mitteln den Anschein hat, um Jugendformen handelt, welche eben aus der Teilung hervorgegangen sind, bezweifle ich auf Grund der äußerst *geringen Teilungstendenz* nach Eintritt der Vergiftung; (allerdings kann sich die Teilung auch außerhalb des Blutes im „Schutz" gewisser Organe abspielen). Auf jeden Fall sind es resistente Trypanosomen, welche sowohl dem Gift wie auch der „Resorption" in irgendwelchen Organen am längsten widerstehen und dadurch, daß sie schließlich nur noch allein (vielleicht neben ganz seltenen toten Trypanosomen) vorhanden sind, dem kurz vorher noch von Untergangsformen beherrschten Bild einen völlig anderen Charakter geben. Diese wenigen „Überlebenden" dürften, auch wenn das Blut, wie bei allen von mir unternommenen Versuchen mit Tartarus stibiatus, schließlich einige Stunden nach der Behandlung negativ wird, diejenigen sein, welche für das Auftreten von Rückfällen verantwortlich zu machen sind, und die *Therapie* hätte sonach die Aufgabe, nach der Vernichtung der Hauptmasse der Trypanosomen gerade diese Überlebenden im Blut bzw. die Teilungsformen in gewissen Organen im *richtigen Augenblick* (den ich z. B. bei den Versuchen 14 und 17 auf



3 Stunden nach der ersten Injektion ansetzen möchte*), durch eine sicher wirkende *zweite* Injektion mit einem Mittel zu erfassen, welches einer *anderen* therapeutischen Reihe angehört (z. B. „Bayer 205"). Wo sich bei anderen Mitteln ähnliche Tatsachen ergeben, müßte dort die Zeit für die zweite Injektion ebenfalls im Tierversuch durch „fraktionierte" Beobachtung des Infektionsbildes ermittelt werden. Ich erinnere hier an die bereits für Tryp. brucei beim Atoxyl erwähnte Erscheinung.

3. *Stibenyl.*

(Vers. 53, 57; 48, 74; 52, 58, 75.)

Außer dem lange bekannten und erprobten Brechweinstein prüfte ich noch ein neueres Sb-Präparat, das Acetyl-p-aminophenylstibinsaure Natron oder Stibenyl (Chem. Fabrik von Heyden). Nach *Schmidt*[27]) ist dieses Na-Salz der p-Acetylaminophenylstibinsäure das Antimonanalogon des Atoxyls, es müssen also, *Ehrlichs* Ansicht entsprechend, „die gleichen Substituenten im Benzolkern als haptophore Gruppen wirken, wie bei den Arsenpräparaten", hier also wie beim Atoxyl. Es muß jedoch nach denselben Autoren beachtet werden, daß es bei der Beurteilung der Wirkung von Sb-Präparaten wesentlich auf die Konstitution des Antimon*restes* mit ankommt, da dieser für die *Abgabe* des Sb am Ort der Wirkung verantwortlich ist.

In meinen Versuchen kamen Dosen von 0,0018—0,018/20 g Maus zur Anwendung. Genau entsprechend den bei der Behandlung der Kinderkalaazar gewonnenen Erfahrungen[27]) zeigte sich nun auch bei meinen morphologischen, zum Teil mit der Dosis letalis vorgenommenen Versuchen eine ersichtliche *Verzögerung* der Wirkung auf das Trypanosom gegenüber derjenigen des Brechweinsteins. Degenerationsformen treten darnach erst nach etwa 3 Stunden in einer einigermaßen auffallenden Zahl auf, nachdem *vereinzelte* abgestorbene Flagellaten sich allerdings auch schon nach etwa $1^1/_2$ Stunden in zweien der Versuche mit Tryp. equinum gezeigt hatten; die Veränderungen am Kern entsprechen dabei genau denen, welche durch Brechweinstein erzeugt werden; doch sind diese Veränderungen einwandfrei nur an Untergangsformen — also Trypanosomen mit schwach gefärbtem, anscheinend schon leblosem Protoplasma und verkümmerter undulierender Membran — zu erkennen; man kann sich danach wenigstens wieder die

*) Auszug a. d. Protokoll. Vers. 14: . . . $2^1/_2$ Std. n. d. Behandlg.: *Degenerationsformen* (Kugeln, Blähformen, aufgeplatzte Tr., freie Geißeln, . . . 3 Std.: Sehr wenig Tsypanosomen, *alle normal* aussehend, alle Untergangsformen aus d. Blut verschwunden . . .; $4^1/_2$ Std.: Noch weniger Tsypanosomen, *normal* aussehend. Und. Membran sehr gut ausgebildet, *Kernteilungen.*

Vers. 17: 2—3 Std.: Sehr spärlich stark *deformierte* Trypanosomen, Kern zentral zerfallen; 4 Std.: *Blut negativ.*



„Todesursache" einigermaßen rekonstruieren. Sonst fand sich nichts Einheitliches, was als spezifische Wirkung beansprucht werden könnte, und es bleibt m. E. für das Präparat lediglich eine *abgeschwächte Tartarus-stibiatus-Wirkung* auf den Kern nachweisbar. Etwas anderes konnte auch nicht erwartet werden, und ich bin der Überzeugung, daß bei ähnlichen Parallelversuchen mit anderen Mitteln aus ein und derselben chemischen Reihe sich morphologisch wohl niemals mehr als höchstens die spezifische Giftwirkung des Grundstoffes, höchstens wie hier mit quantitativen Abweichungen, wird nachweisen lassen. Für das Stibenyl glaube ich feststellen zu können, daß seine *trypanocide Wirkung quantitativ und damit zeitlich erheblich hinter derjenigen des Tartarus stibiatus zurücksteht, daß sie dagegen qualitativ mit ihr übereinstimmt.* Am empfindlichsten gegenüber dem Mittel war, nach dem zeitlichen Auftreten der Kernveränderung und der Untergangsformen, das Tryp. equinum.

4. Parafuchsin.

(Vers. 39, 65; 40, 49, 67; 44. Abb. 66—87.)

Auch beim Parafuchsin, welches hier als ölsaures Salz in letaler Dosis (0,0005—0,001/20 g Maus) zur subcutanen Anwendung gebracht wurde, konnte eine gut umschriebene Wirkung morphologisch festgestellt werden. Die lebenswichtigen Teile der Trypanosomenzelle blieben zwar anscheinend völlig verschont, denn die geringfügigen und zudem fraglichen Kernveränderungen bei einigen der Versuchsreihen traten meist erst kurz vor dem Tod des Wirtstieres auf und sind schon deswegen nicht beweisend. Praktisch voraussichtlich wertlos, theoretisch aber um so interessanter ist dagegen der Nachweis einer mit dem durch das ölsaure Parafuchsin veranlaßten *Verschwinden des Blepharoblasten* verknüpften Gesetzmäßigkeit. Leider gelang es bei Dourine und Nagana nur in den Versuchen 65 und 40, das Versuchstier eine genügend lange Zeit am Leben zu erhalten, um das Verschwinden des Blepharoblasten verfolgen zu können, welches bei den *para*chinoiden Triphenylmethanfarbstoffen zuerst von *Werbetzki*[34]) beobachtet wurde. (Die an sich genügend lange beobachteten Versuche mit Mal de Caderas eignen sich wegen der schon unter physiologischen Verhältnissen sehr kleinen und oft fehlenden Blepharoblasten zu dieser Beobachtung nicht!)

Sowohl bei Tryp. *equiperdum* (Vers. 65) wie bei Tryp. *brucei* (Vers. 40) treten die ersten blepharoblastlosen Trypanosomen schon nach 5 Stunden auf. In diesem frühen Stadium finden sich nur selten normal aussehende blepharoblastlose Trypanosomen, meist ist dieses Organ in solchen Tieren verschwunden, welche man ihrem ganzen Habitus nach (Färbbarkeit, Ausbildung der undulierenden Membran) als schwer degeneriert oder als tot ansehen muß, und welche „laufend" aus dem Kreislauf ausgesondert werden.



Nur die Versuche 40 und 49 gestatten von etwa der 24. Stunde an — frühestens! — einen Einblick in die näheren Verhältnisse, unter welchen der Blepharoblast verschwindet.

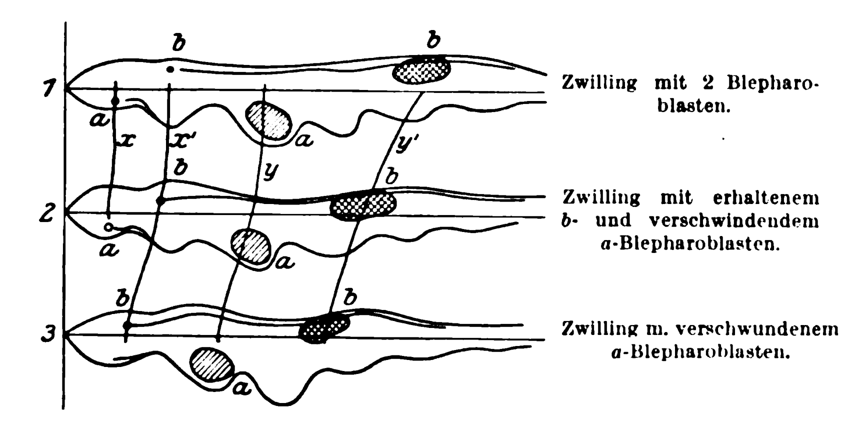
Zunächst kann festgestellt werden, daß der Blepharoblast *stets an Ort und Stelle* zur Einschmelzung gelangt und keinerlei Wanderung kernwärts unternimmt, wie dies z. B. von Trypanosoma lewisi für Oxazin — ein Mittel einer anderen Farbstoffreihe — von *Gonder* beschrieben wurde. Dieser Forscher macht schon darauf aufmerksam, daß der Blepharoblast bei Trypanosoma brucei infolge geringerer Widerstandsfähigkeit dem Mittel an Ort und Stelle erliegt, der von Tryp. lewisi dagegen vermöge seiner großen Widerstandskraft Zeit habe, vor seinem Untergang nach seinem Ausgangsort, dem Kern, zurückzuwandern. Für Tryp. *brucei* konnte ich somit, ohne auf die spekulative Begründung *Gonders* näher eingehen zu können, *Gonders* mit Oxazin erreichtes Ergebnis bestätigen und ferner nachweisen, daß der Blepharoblast von Tryp. *equiperdum* sich ebenso verhält, also *ebenfalls an Ort und Stelle verschwindet.*

Ich komme nun zur Besprechung der oben erwähnten *Gesetzmäßigkeit, mit welcher der Blepharoblast bei der Teilung der Trypanosomen* unter der Wirkung des ölsauren *Parafuchsins der Einschmelzung anheimfällt.*

Zur Erläuterung schicke ich noch kurz folgendes voraus: In den von Tier 40 nach 29 und nach $52^3/_4$ Stunden hergestellten Präparaten finden sich außerordentlich viel Zweiteilungen im Stadium der Protoplasmateilung bei bereits geteiltem Kern und meist geteiltem Blepharoblasten. Einer der Kerne liegt bekanntlich fast stets dem Hinterende erheblich näher als der andere; er erscheint i. a. (d. h. nie ist das Umgekehrte der Fall!) größer als der andere Kern und rundlich, während der andere länglich ist; ferner erscheint sein Chromidialapparat locker gefügt, im Gegensatz zu dem kompakten Bau des anderen Kerns (Abb. 73, 74, 76, 77). Der Einfachheit halber bezeichne ich im folgenden diesen hinterendnahen Kern als *a*-Kern, den geißelendnahen des anderen Teiltrypanosoms als *b*-Kern und entsprechend die bezüglichen Trypanosomen als *a*- und *b*-Trypanosom. *Auffälligerweise ist das a-Trypanosom stets dasjenige des Zwillings, welches den ursprünglichen Randfaden und die undulierende Membran bei der Teilung übernommen hat, während das b-Tier sich seinen Bewegungsapparat neu bilden muß.*

Die oben angedeutete Gesetzmäßigkeit besteht nun darin, daß der Blepharoblast, wenn er überhaupt in einem der beiden Teiltrypanosomen verschwindet, ganz ausnahmslos zuerst in dem a-Trypanosom der Wirkung des ölsauren Parafuchsins erliegt. Das Verschwinden des Blepharoblasten läßt sich in allen Übergängen von schwächerer Färbbarkeit über eine mehr oder minder verschwommen angedeutete „Verdichtung“ im Protoplasma an dem ihm zukommenden Ort bis zum gänzlichen Fehlen verfolgen; jedoch läßt sich niemals eine Abweichung von dem aufgefundenen Gesetz finden, daß er zuerst in dem *a*-Trypanosom der Auflösung anheimfällt. Noch eine weitere Tatsache, welche dem allmählichen Verschwinden des *a*-Blepharoblasten parallel geht, konnte

rein zahlenmäßig durch systematische *Ausmessung* in Teilung befindlicher Trypanosomen des $52^3/_4$ Stunden alten Präparates festgestellt werden, nämlich die, *daß in dem Maße, in welchem der a-Blepharoblast der Autolyse anheimfällt, nicht nur der zugehörige (a-)Kern, sondern auch der b-Blepharoblast und der b-Kern im b-Trypanosom dem Hinterende näherrücken.* Dies veranschaulicht folgende Kurve, welche die vom



Zahlenwerte für den Abstand der Blepharoblasten und Kerne, vom Hinterende aus gemessen:

	Gruppe 1	2	3
a-Blepharoblast (x)	12,1	11,9	—
b-Blepharoblast (x')	25,8	23,5	17,1
a-Kern (y)	48,7	47,2	39,2
b-Kern (y')	80,9	75,2	66,8

Hinterende (= 0) aus gemessenen axialen Abständen für die Blepharoblasten (Kurven x, x') und die Kernmitten (Kurven y, y') als Durchschnitt der Messungen von im ganzen 64 Trypanosonem schematisch darstellt*). Die 3 Abszissen 1, 2 und 3 zeigen die gefundenen Durchschnittswerte für folgende 3 Fälle:

1. beide Blepharoblasten gut erhalten,
2. der a-Blepharoblast schon undeutlich,
3. der a-Blepharoblast völlig verschwunden.

Es ist mir nicht zweifelhaft, daß sowohl das frühere Verschwinden des a-Blepharoblasten als auch die morphologischen Unterschiede beider Kerne wie schließlich das allmähliche Näherrücken des a-Kernes gegen das Hinterende der Ausdruck gegenseitiger ursächlicher Beziehungen ist (der gleichsinnigen Bewegung der Organe in dem schon weitgehend getrennten b-Trypanosom messe ich nur eine mechanische,

*) Die Maße waren innerhalb der einzelnen Gruppen (1—3) ziemlich gleichmäßig.

den veränderten räumlichen Verhältnissen entsprechende Rolle bei). Trotz all den interessanten, mit konstanter Gesetzmäßigkeit wiederkehrenden Tatsachen möchte ich der Versuchung, Erklärungsversuche zu machen, widerstehen, denn diese bedürfen neben mehrfacher Nachprüfung erst ausgedehnter weiterer Versuche in derselben Richtung. Jedenfalls möchte ich die Tatsache, daß das mit dem ursprünglichen Bewegungsapparat ausgestattete *a*-Trypanosom den weniger widerstandsfähigen, das auf Neubildung des Bewegungsapparates angewiesene *b*-Trypanosom dagegen den widerstandsfähigeren, im Zustande höchster Energieentfaltung gedachten Blepharoblasten besitzt, doch als einen weiteren Beweis dafür ansehen, daß die *Bildung* des neuen Randfadens bei der Teilung mit dem Blepharoblasten zusammenhängt, womit der Name für dieses Organ legitimiert wäre.

Sonst sind kaum Veränderungen an den Trypanosomen wahrzunehmen. Sicher scheint mir zu sein, daß das Mittel eine *lebhafte Teilungstätigkeit* hervorruft bzw. unterhält. *Im allgemeinen bleiben Kern wie Protoplasma völlig unverändert,* was mit dem geringen pharmakologischen Wert des Mittels übereinstimmt; bei der hier aus besonderen Gründen vorgenommenen subcutanen Einverleibung des Mittels verfallen trotz tödlicher Dosis nur sehr wenig Trypanosomen dem Untergang, dazu erst nach recht langer Zeit. Dagegen dürfte das durch das Mittel verursachte Verschwinden des Blepharoblasten therapeutisch wertlos sein, wie bereits angedeutet wurde. Denn in späteren Stadien des Versuches treffen wir immer zahlreicher neben den noch in Teilung begriffenen blepharoblastlosen Trypanosomen Einzelflagellaten, welche, bereits blepharoblastlos, ein völlig normales Aussehen zeigen. Sie sind sicher aus den beschriebenen Teilungen als *a*-Tiere hervorgegangen*).

Wie wenig man verallgemeinernde Schlüsse ziehen darf, zeigt sich bei einem Vergleich von Tryp. equinum mit den bisher betrachteten beiden anderen Trypanosomen. Während bei diesen nur ganz spärlich Granula nachweisbar waren, ist bei Tryp. equinum nach Vers. 44 die Granulabildung im Protoplasma recht erheblich und geht auch mit einer deutlichen Kernschädigung einher. Schon kurze Zeit darauf ist eine starke Vermehrung der Trypanosomen vor sich gegangen, so daß dem Befund der anscheinenden Protoplasma- und Kernschädigung keinerlei Bedeutung für die Infektion als solche zukommt; es sind eben noch genügend viele Trypanosomen regenerationsfähig geblieben, um nach Wiedererlangung ihrer Teilungsfähigkeit die Infektion zu unterhalten. Am besten erklärt sich dieser Zusammenhang jedoch wieder

*) Die beabsichtigte Weiterzüchtung dieser Blepharoblastlosen (Tryp. brucei) durch Einzelzellenübertragung mußte leider unterbleiben, da es mir seither nicht mehr glückte, eine Maus genügend lange am Leben zu erhalten.



mit *Reichenows* Volutintheorie, wonach das Volutin die Reservestoffe für die bevorstehende Kernteilung darstellt.

Zusammenfassend läßt sich über die Parafuchsinwirkung nach meinen Versuchen daher nur sagen, *daß weder Protoplasma noch Kern eine das Leben oder die Vermehrung der im Blut kreisenden Trypanosomen mindernde Schädigung erleiden*, und daß das Mittel daher in der Form *subcutaner* Anwendung schon von diesem Gesichtspunkt aus wertlos für die Behandlung ist. Daneben unterdrückt das Parafuchsin nach längerer Zeit auf einmalige hohe (letale) subcutane Dosen hin den a-Blepharoblasten bei der — keineswegs behinderten — Zweiteilung.

Es ist hier der Ort, einer typischen Hinterendform Erwähnung zu tun, welche ebenso wie bei Vers. 49 (Abb. 80—87) auch bei anderen Versuchsreihen gefunden wurde. *Das Hinterende* des Trypanosoms erscheint hierbei nicht spitz und hat auch nichts mit der sonst häufig beobachteten Hinterend-Degeneration (durch Quellung, Blähung, Abrundung) zu tun, sondern es erscheint, wie die Figuren zeigen, „*wie scharf abgeschnitten*". Es handelt sich dabei absolut nicht um das Ergebnis von Arzneiwirkung, sondern gerade Vers. 49 beweist, daß die Bildung *auch schon vor der Behandlung* auftritt.

Gegen die vielleicht naheliegende Vermutung des Abbrechens degenerierter Hinterenden spricht nun zunächst die Tatsache, daß der Abstand zwischen dem nunmehrigen Hinterende und dem Blepharoblasten nicht etwa erheblich kleiner ist, sondern derselbe erscheint wie bei Trypanosomen mit spitzem Hinterende; zweitens ist zu beachten, daß das nunmehrige Hinterende nicht, wie man erwarten sollte, in jedem Falle konisch zuläuft (als „Kegelstumpf"), sondern recht häufig im Gegenteil das umgekehrte Bild eines allerdings sehr schwach nach außen sich erweiternden Trichters zeigt, so daß ich fast geneigt wäre, dieses Verhalten mit einer hier vorhandenen, maximal klaffenden „Körperöffnung" zu erklären, ein Gedanke, welcher sich einem auch z. B. bei den mit Trypaflavin erhaltenen Bildern (Abb. 120, 130) aufdrängt.

Eine Erklärung für das Zustandekommen einer solchen „Öffnung" verdanke ich *Reichenow*, welcher annimmt, daß sich aus irgendwelchen Ursachen die am Körperende spitz zusammenlaufenden Stützfibrillen der Pellicula an der Spitze voneinander trennen.

Schließlich erwähnt das Versuchsprotokoll (Vers. 44) noch das Auftreten einer Blepharoblastvakuole[28]). Diese Erscheinung wird bei der Besprechung des nächsten Mittels kurz gewürdigt werden.

5. *Tryparosan.*

(Vers. 29, 45; 27; 28, 50. Abb. 88—100.)

Von den *para*chinoiden Triphenylmethanfarbstoffen wurde noch ein zweiter, das Tryparosan, untersucht. Es ist nach *Ehrlich*[5]) das Dichlorpararosanilin und wirkt nach *Roehl*[26]) noch nicht halb so giftig wie Parafuchsin. Dieser letztgenannte Forscher hat damit in 75% der Fälle, und zwar mit etwa der halben bis einem Drittel der Dosis letalis bei Nagana Heilung erzielt. Leider hat *Roehl* keine morphologischen Beobachtungen über die Wirkung des Tryparosans gemacht,



doch schätzt er auf Grund seiner Tierversuche seinen therapeutischen Wert höher ein als den des Parafuchsins. Auch diese empirische Überzeugung konnte von mir auf Grund der morphologischen Beobachtung bestätigt werden. So steht bei der Betrachtung der Versuche mit Tryp. equiperdum eine erhebliche *Kern- und Protoplasmaschädigung* im Vordergrund, welch letztere ich als primär annehmen möchte mangels jeglicher sonstiger die verhältnismäßig frühzeitig einsetzende Abkugelung erklärender Veränderung. Hierfür spricht auch die erhebliche Schollenbildung im Protoplasma gegen das Ende der Lebenszeit der Ausgangsgeneration der Trypanosomen; jedenfalls besteht ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem Parafuchsin, bei welchem entsprechend seiner geringen therapeutischen Wirkung keine Schädigung der lebenswichtigen Zellbestandteile zu erkennen war. Der recht starken Wirkung des in etwa der 6fachen von *Roehl* angegebenen Heildosis angewandten Mittels (*Roehl*: 0,002—0,00285; hier: 0,01275/20 g Maus) entspricht das Auftreten von Kugelformen bereits nach $3^1/_4$ Stunden, die anfänglich seltenen Degenerationsformen nehmen allmählich zu, und etwa nach 30 Stunden sind nur noch ganz spärlich Trypanosomen als Untergangsformen nachweisbar. Ob sie ganz aus dem Blut verschwanden, wurde nicht weiter beobachtet. Die nächste Beobachtung nach 48 Stunden zeigt deutlich eine *neue Generation* von Trypanosomen im Blut, welche an die Stelle der Ausgangsgeneration getreten ist (plötzlich starke Vermehrung). Dieser Vorgang entspricht also biologisch dem ersten Rückfall, wenn das Tier (Vers. 45) vielleicht auch gar nicht inzwischen trypanosomenfreies Blut gehabt hat. Aber *sehr* rasch verfällt auch diese Generation dem Untergang, und es ist zu vermuten, daß sie dem Mittel gegenüber weniger widerstandsfähig war als die erste. Ob und wie oft etwa das Spiel sich noch wiederholte, wurde nicht weiter verfolgt; vermutlich trat doch eine vorübergehende Blutsterilisation ein, da das Versuchstier erst am 5. Tag nach der Behandlung bzw. am 8. Tag nach der Infektion an Dourine starb. Diese Verlängerung der Infektionszeit infolge des rasch aufeinanderfolgenden Absterbens immer neuer Generationen, deren „Wiege“ vielleicht außerhalb des Blutstromes liegt, hat auch *Roehl* bereits beobachtet und als Übergang in die chronische Form beschrieben[26]) S. 74. Daß auch hier sowohl bei Vers. 29 als auch bei Vers. 45 anfänglich die erwähnte Blepharoblastvakuole wieder auftritt, verzeichne ich unter Hinweis auf die Besprechung bei Tryp. equinum. Schließlich sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß von der 2. Generation ab blepharoblastlose Trypanosomen in geringer Zahl vorkommen; der Zeitpunkt spricht auf jeden Fall dafür, daß der Verlust dieses Organs auch hier wie beim Parafuchsin *gelegentlich der Teilung* stattfindet, nachzuweisen war dies jedoch nicht wegen der kleinen Zahl der beobachteten Teilungsformen, deren Hauptmenge etwa in die Zeit zwischen



der 35. und 42. Stunde zu verlegen sein dürfte. Von der 2. Generation ist etwa $^1/_5$ blepharoblastlos geworden (Abb. 90).

Bei Tryp. *brucei* läßt sich eine erhebliche Schädigung von Protoplasma und Kern feststellen, daneben liegt die blepharoblastauflösende Wirkung bei der angewandten hohen Dosis von 0,013 in einem sehr frühen Zeitabschnitte der Vergiftung, etwa zwischen 1 und 6 Stunden. Den Vorgang des Verschwindens des Blepharoblasten konnte ich nicht verfolgen, da zu wenig Teilungen beobachtet wurden (Abb. 91).

Wie auch bei anderen Versuchen — wenn auch weniger überzeugend — konnte des weiteren bei den Versuchen mit Tryparosan die Beobachtung gemacht werden, daß die Schädigung des Protoplasmas im Hinterende beginnt bzw. das Hinterende am meisten betrifft; denn es hat im Hinterende eine geringere Avidität zu seinem spezifischen Farbstoff als im Geißelende. Die Wirkung des Tryparosans scheint auf Tryp. *brucei* stärker zu sein als auf Tryp. equiperdum, welches sich überhaupt (vgl. hierüber die Zusammenfassung!) bisher als ziemlich allen geprüften Mitteln gegenüber am widerstandsfähigsten erwiesen hat.

Noch empfindlicher als Tryp. brucei ist Tryp. *equinum* gegenüber dem Tryparosan; doch ergab sich kein Anhalt dafür, daß etwa bestimmte Organe der Zelle der Wirkung in bevorzugter Weise ausgesetzt wären; wenn man nach Vers. 50 wegen der Granulabildung im Protoplasma etwa eine besondere Affinität des Tryparosans zum Protoplasma annehmen wollte, so belehrt einen der Vers. 28, wo überhaupt keine Granula auftreten, sofort darüber, wie verfehlt es ist, auf solche nicht regelmäßig wiederkehrenden Erscheinungen Schlüsse allgemeiner Art aufzubauen; die Granula sind auch hier wohl sicher mit Volutinkörpern identisch. Das einzige, was man nach beiden Versuchen wohl sagen kann, ist, daß eine Protoplasmaschädigung beobachtet ist und vielleicht auch im Vordergrund der Tryparosanwirkung steht. Daß eine rasche und erhebliche Wirkung dieses Mittels auch auf Tryp. equinum stattfindet, geht aus den Versuchen (Abb. 92—100) deutlich hervor; schon nach 4—6 Stunden begegnen wir den typischen, von *Breinl* und *Moore* „Cysten" genannten Kugelformen genau wie bei Tryp. equiperdum. Sie sind der deutliche Beweis beginnender Degeneration des Protoplasmas. Daß bei Tryp. brucei diese Kugelform nicht beobachtet wurde, liegt wohl nur daran, daß die Vergiftung viel zu intensiv auf diesen Flagellaten einwirkte.

Bei der Betrachtung des Protokolls zu Vers. 28 und der dazugehörigen Bilder (Abb. 92—100) fällt am meisten die starke Ausbildung der Blepharoblastvakuole auf. Die Vakuole an sich ist — am häufigsten bei Tryp. equinum, viel seltener bei Tryp. equiperdum — ein physiologisches Gebilde, dessen Auftreten mit der Arzneiwirkung, wie auch bei anderen



hier wiedergegebenen Versuchsreihen, nicht das geringste zu tun hat. Indem hier auf die Arbeit von *v. Schuckmann*[26]) verwiesen sei, stelle auch ich eine mäßige Volumzunahme der *bereits vor der Behandlung nachweisbaren Vakuole* im Beginn der Giftwirkung fest, doch geht ferner aus meinen Versuchen hervor, daß die Vakuole im weiteren Verlauf der Giftwirkung und besonders, sobald das Trypanosom das Schrumpf- und Kugelstadium erreicht hat, ihr Volumen dem allgemeinen Schrumpfvorgang entsprechend wieder reduziert. Dies alles ist natürlich das Ergebnis des durchschnittlichen Eindruckes, welchen man aus vielen gleichzeitigen Bildern gewinnt, da es ja unmöglich ist, die Wirkung eines Mittels an ein und demselben Flagellaten zu verfolgen. Ich möchte hier nur noch erwähnen, daß ich keine Möglichkeit gefunden habe, mich den weitergehenden Folgerungen *v. Schuckmanns* anzuschließen, wonach die Vakuole die Grundlage für eine innerhalb des Trypanosoms sich ausbildende Cyste darstellen soll. Was vorläufig an der Blepharoblastvakuole noch das Rätselhafteste ist, ist m. E. der Umstand, daß sie bei manchen Versuchen von vornherein da ist, bei anderen überhaupt nicht auftritt, obwohl stets derselbe Ausgangsstamm verwendet wurde. Ich möchte daher ihr Auftreten mit einmalig oder periodisch sich wiederholenden *normalen* Lebensvorgängen der Trypanosomenzelle noch am ehesten in Zusammenhang bringen*). Am seltensten wurden sie bei Tryp. brucei (Vers. 22b (?), 42) festgestellt.

6. *Flavicid.*

(Vers. 30, 47, 66; 31, 33, 46; 32, 34.)

Die hervorstechendste Veränderung, welche die mit Flavicid — einem Farbstoff der *Acridinreihe* — angegriffenen Dourine- und Naganaerreger erleiden, besteht darin, daß sie ihren *Blepharoblasten* einbüßen.

Betrachtet man die beiden Versuchsprotokolle für Dourine (Vers. 30) und Nagana (Vers. 33) — beide Versuche fanden unter völlig gleichen Bedingungen (Dosis 0,0001/20 g Maus) statt, —, so läßt sich zunächst ein von der 2. bis 10. Stunde etwa dauerndes Stadium nachweisen, in welchem bei fortschreitendem Untergang von Trypanosomen sich nur selten solche Flagellaten finden, welche ihren Blepharoblasten schon verloren haben. Gegen das Ende dieser Periode setzt nun plötzlich ein Teilungsprozeß ein (nur bei Vers. 33 beobachtet), aus welchem etwa die Hälfte aller Trypanosomen blepharoblastlos her-

*) Aus der nach Abschluß dieser Arbeit erschienenen Arbeit *Reichenows*: „Untersuchungen über das Verhalten von Trypanosoma gambiense", Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, H. 2/3, 1921, geht hervor, daß dieser Autor (S. 314) zu ähnlichen Schlußfolgerungen bei der Untersuchung der Liquorparasiten gelangt und geneigt ist, insbesondere Unterschiede im osmotischen Druck des umgebenden Mediums für das Auftreten und die wechselnde Größe der Vakuole verantwortlich zu machen.



vorgehen. Erst im Laufe weiterer 15 Stunden sind dann bei Tryp. equiperdum 75%, bei Tryp. brucei 100% blepharoblastlos geworden. Dabei zeigt die Untersuchung der Teilungsformen im Versuch 33, daß die beim Parafuchsin gefundene Gesetzmäßigkeit für das Verschwinden des Blepharoblasten beim Flavicid keineswegs zutrifft, sondern es ergab sich im Gegenteil die Wahrscheinlichkeit, daß bei *einzelnen wenigen* Teilungsformen der b-Blepharoblast zuerst verschwindet. Weder bei Dourine noch bei Nagana wurden sonst eindeutige Veränderungen gefunden, welche man als primär bezeichnen könnte, und so bleibt vorläufig hier die biochemische Ursache für den Eintritt der schließlichen Zelldegeneration in Dunkel gehüllt, wenn auch die bei der Betrachtung der Wirkung auf Tryp. equinum gewonnene Erfahrung, wie — im weiteren Sinne — die Wirkung des anderen hier untersuchten Acridinfarbstoffes, des Trypaflavins, eine unmittelbare *Protoplasmaschädigung wahrscheinlich* machen.

Bei Tryp. equinum wurden grundsätzlich keine Blepharoblaststudien angestellt, da der Blepharoblast hier an und für sich schon zu große Unbeständigkeiten aufweist. Das Protoplasma zeigt Neigung zur Körnerbildung (Vers. 34, 6 Stunden).

An den oben geäußerten Gedanken, daß eine Periodizität im Ablauf einzelner Lebensvorgänge für die Blutflagellaten angenommen werden könne, wird man wieder erinnert, wenn man sieht, daß beim Vergleich der Blutbilder in den Versuchen 32 und 34 *vor der Behandlung* bereits völlig anders geartete Trypanosomentypen gefunden werden, und wenn ich hinzufüge, daß ich ähnliche Verhältnisse noch öfter antraf.

7. *Trypaflavin.*

(Vers. 11, 16; 22b; 18. Abb. 101—162.)

Bei der Betrachtung der mittels Trypaflavins erzeugten Bildreihen zeigt sich, daß eine meist erhebliche *Granulabildung im Protoplasma* im Vordergrund der Veränderungen steht, ja meist die einzige nachweisbare Veränderung bis zum Auftreten der Untergangsformen bildet. Daneben kann man, und zwar zeitlich völlig mit dem mittels Flavicids erhaltenen Ergebnis übereinstimmend, das Verschwinden des Blepharoblasten beobachten; eine Gesetzmäßigkeit für diesen Vorgang läßt sich ebensowenig nachweisen wie beim Flavicid. Der Kern bleibt im allgemeinen unbeeinflußt und erscheint erst in Untergangsformen schwach gefärbt und „homogen". — Die angewandten Dosen bewegen sich zwischen 0,00038 und 0,0005/20 g Mausgewicht.

Die Protoplasmakörnelung ist am schwächsten bei Tryp. brucei, etwas stärker bei Tryp. equiperdum, doch muß berücksichtigt werden, daß die Naganamaus (Vers. 22b) eine wenn auch nur unbedeutend

kleinere Menge von dem Mittel erhalten hat als die Dourinemaus (Versuch 16; in Versuch 11 ist die Dosis nicht genau berechnet). Erheblich *empfindlicher* gegenüber dem Trypaflavin scheint das Protoplasma des Tryp. equinum zu sein. Hier bildet sich wie bei den beiden anderen Trypanosomen, wenn auch früher und intensiver, im Protoplasma eine Volutin-Granulakette aus, welche am schönsten im Vorderende, und zwar entlang dem dem Randfaden gegenüberliegenden Saum zu sehen ist, während im Hinterende meist nur einzelne Körner regellos zerstreut liegen und nur hier und da sich zu kurzen Ketten vereinigen (Abb. 135 bis 137, 140, 141, 150—153). Diese Hinterendkörner sind meist etwas dicker als diejenigen des Vorderendes und bilden sich, wie wir an den Abb. 154—157 sehen, von etwa der 9. Stunde an zu ganz riesigen Kugeln um, welche schon durch ihre Form anzeigen, daß sie flüssig sind. Über die Herkunft dieser Kugeln möchte ich hiermit jedoch nicht ein endgültiges Urteil abgeben, da es sehr häufig so aussieht, als entständen sie karyogen (Abb. 154—156, vgl. auch Abb. 31, 168); denn die Art der Färbung stimmt dann genau mit der des oft rudimentären, oft anscheinend ebenfalls verflüssigten und zu einer homogen tingierten Kugel umgebildeten Kernes völlig überein [vgl. *Gonder*[7])]. Sind mehrere solcher Kugeln vorhanden, so liegt die größte oft am äußersten Hinterende, jedenfalls diesem zunächst, während die kleineren kernwärts folgen. In seltenen Fällen (Abb. 154, 157) fand ich die größte der Kugeln wie im Augenblick der Ausstoßung aus dem Hinterende begriffen und möchte daran erinnern, daß ähnliche Bilder uns schon beim Atoxyl, und zwar ebenfalls nur bei Tryp. equinum begegneten (Abb. 25—27). Jedenfalls dürfte die wiederholte Beobachtung einer so auffälligen Erscheinung zu dem Schluß berechtigen, *daß das Tryp. equinum anscheinend die Fähigkeit besitzt, gewisse* nicht näher bekannte *Körper in Tropfenform am äußersten Hinterende auszustoßen.*

8. Trypasafrol.

(Vers. 41; 42; 43.)

Bei dem einzigen der aus der Reihe der Safraninfarbstoffe geprüften Körper, dem Trypasafrol, ergab sich als hervorstechendster Befund eine eigentümliche, von den bisher beschriebenen Granulationen abweichende, äußerst *zarte Körnelung*, welche gleichmäßig über das Protoplasma verteilt ist. Trotzdem möchte ich es für nicht ausgeschlossen halten, daß diese feinen Körnchen karyogenen Ursprungs sind, denn es läßt sich gleichzeitig öfter ein *körniger Zerfall des Chromatins* feststellen [vgl. *v. Prowazek*[22])]. Bei dem Versuch 43, wo dem Tier eine tödliche Menge des Mittels einverleibt wurde, ist diese Granulierung schon nach $^1/_4$ Stunde zu erkennen. Wenn ich diese feine Protoplasmagranulierung oder -tüpfelung als einen typischen Effekt des Trypa-



safrols ansehe, so muß ich andererseits betonen, daß die Wirkung des Mittels in „heilender" wie in tödlicher Dosis, soweit sie sich an den Trypanosomen beobachten läßt, recht gering ist. Auf eine anfänglich verstärkte Teilungstendenz folgt erst nach etwa 24 Stunden ein Stadium, in dem die ersten wirklichen Degenerationszeichen auftreten, als deren erstes und hauptsächlichstes ich stets Rückbildungserscheinungen am Bewegungsapparat, besonders Verschmälerung und Schrumpfung der undulierenden Membran betrachte. Zur Ausbildung typischer Kugelformen kommt es überhaupt nicht — m. E. aus dem umgekehrten Grunde, wie bei dem Versuch Tryparosan — Tryp. brucei beschrieben wurde; während dort die Arzneiwirkung zu intensiv war, scheint es, als ob das Trypasafrol infolge seiner geringen pharmakodynamischen Energie nicht imstande sei, das Protoplasma stark genug anzugreifen, um es zur Abkugelung zu veranlassen.

Dosis: 0,00028—0,0003/20 g Maus; einmal: 0,029.

9. *Trypanrot.*

(Vers. 36; 37, 62; 38. Abb. 163—170.)

Eine etwas stärkere Wirkung scheint nach dem Blutbild dem Trypanrot, einem Benzidinfarbstoff, zuzukommen, wenn es auch hier nicht gelungen ist, spezifische Affinitäten des Mittels für die Gesamtwirkung verantwortlich zu machen. Das Mittel wurde in Dosen von 0,0036 bis 0,005/20 g Maus zur Anwendung gebracht. Die nach kurzer Zeit schon (Vers. 37) zu beobachtenden Veränderungen im Kern (Umlagerung von Chromatin?) möchte ich nicht ohne weiteres als degenerativer Art ansehen, zumal um dieselbe Zeit bei den Parallelversuchen eine erhebliche Teilungstätigkeit einsetzt, an der der Kern in erster Reihe beteiligt ist. Was durchweg bei allen drei Trypanosomen beobachtet werden konnte, ist eine *protoplasmogene Granulation,* deren Entstehung aus abwechselnd dichter und weniger dicht gefärbten Stellen des Protoplasmas unschwer zu verfolgen ist. Die Körnelung wird stellenweise recht reichlich, erreicht aber selten die Grade wie bei Atoxyl oder Trypaflavin. Während diese schon durch ihre unscharfen Umrisse kenntlichen protoplasmogenen Granula — sicher Volutin — in der Hauptsache im Vorderende des Trypanosoms liegen, finden sich ähnlich wie beim Trypaflavin daneben einzelne scharf umrandete, aber klein bleibende, *dunkel* gefärbte kugelige Körner. Auf der Höhe der Granulabildung begegnen wir hier wieder einer großen Anzahl von Kugeltrypanosomen in den verschiedensten Stufen ihrer Ausbildung (Abb. 168—170). Hierbei fällt ein Körper auf, welcher sich als große Kugel in demselben Maße herausbildet, als der ursprüngliche Kern der Einschmelzung verfällt; diese solitäre große Kugel dürfte flüssigen Inhalt — dem Färbeeffekt nach von Kernnatur — besitzen. Wahrscheinlich handelt



es sich um Überbleibsel aus einer begonnenen, aber nicht mehr durchgeführten Zellteilung. Ähnliche Körper hat übrigens *Gonder* bei einem Parasiten von Colpoda cucculus beschrieben[7]). Meist ist der eine Kern verflüssigt (kugelig), der andere von normalem Aggregatzustand.

10. „*Bayer* 205".

(Vers. 68, 76; 69, 77; 66, 78.)

Die morphologischen Versuche mit „Bayer 205" ergaben bei der einfachen Betrachtung der nach *Giemsa* gefärbten Präparate kaum einen Anhaltspunkt dafür, daß diesem Mittel etwa eine spezifische Affinität zu bestimmten Organen der Trypanosomenzelle zukäme. Die einzige Tatsache, welche sich mit einiger Konstanz bei sämtlichen Versuchen beobachten ließ, ist die *Abnahme der Färbbarkeit des Protoplasmas* im Laufe der Giftwirkung, während Kern und Blepharoblast verhältnismäßig lange Zeit von dem Mittel unberührt bleiben; schließlich zerfällt allerdings auch der Kern wie bei allen untergehenden Trypanosomen; der Blepharoblast dagegen bleibt bis zuletzt gut färbbar. Da im Protoplasma im Verlauf der Vergiftung meist auch eine geringfügige Granulation auftritt, möchte ich annehmen, daß das Mittel — soweit überhaupt aus dieser Untersuchungsmethode Schlüsse gezogen werden dürfen — in erster Linie als *Protoplasmagift* zur Wirkung gelangt. Auffällig ist, daß gegen Ende der Infektion nur sehr wenig Untergangsformen und keinerlei Kugelformen zu finden waren. Es traten im Verlauf der Giftwirkung keine gehemmten Teilungen auf[14]). Da ich mit hohen Dosen arbeitete, ist die Annahme naheliegend, daß hier eine bei *kleineren* Dosen auftretende Teilungstendenz durch größere Dosen unterdrückt wird.

11. Normales Menschenserum.

(Vers. 54—56, 63, 70—72.)

Im Anschluß an die besprochenen chemischen Heilmittel wurde schließlich noch normales Menschenserum bezüglich seiner tiertrypanosomenschädigenden Wirkung geprüft. Die Versuche ergaben weder im einzelnen noch in ihrer Gesamtheit den geringsten Anhalt dafür, daß die Trypanosomenzelle durch das mit Abwehrkräften ausgestattete Serum irgendeine organische Veränderung erleidet, obwohl die Tiere stets zunächst geheilt wurden; die Dosen betrugen 1—2 ccm Serum, das Blut war meist nach 24 Stunden negativ. Die Trypanosomen verschwinden aus dem Blut, indem ein Teil sich schließlich abkugelt, die Mehrzahl allerdings wohl ohne vorherige Abkugelung dem Untergang anheimfällt. Daß die Kugelformen noch eine gewisse Lebensenergie besitzen müssen, geht daraus hervor, daß ihr Protoplasma wie auch ihr Kern sich im Vergleich zu den gleichzeitigen nicht abgekugelten Unter-



gangsformen stets (wie auch bei den anderen Heilmitteln) sehr gut färben. Wenn bei einem Versuch körniger, traubiger Kernzerfall festgestellt wurde, so gewann ich aus den übrigen Versuchen eher den Eindruck, als ob der Kern im Vergleich zum Protoplasma widerstandsfähiger sei — kurz, es ist nicht möglich, ein eindeutiges Ergebnis für die Versuche mit Menschenserum zu finden, und ich beschränke mich daher auf die Mitteilung des, wie gesagt, sehr wenig einheitlichen Ergebnisses.

Schlußbetrachtungen.

Ein Rückblick zeigt uns, daß die meisten der geprüften Mittel eine morphologisch nachweisbare *Protoplasma*wirkung ausüben. Primär protoplasmaschädigend fand ich *Atoxyl*, *Tryparosan*, *Flavicid*, *Trypaflavin* und *Trypanrot*; aber auch bei *Trypasafrol* (?), „*Bayer* 205" und *Menschenserum* glaube ich eine Protoplasmawirkung erkannt zu haben. Eine einwandfrei nachweisbare spezifische Affinität des *Kernes* besteht nur für die beiden Antimonpräparate, *Tartarus stibiatus* und *Stibenyl*; weniger sicher, wenn auch wahrscheinlich primär, ist die karyolytische Wirkung von Trypasafrol und Trypanrot. Den *Blepharoblasten* bringen, wie ja bereits bekannt war, *Parafuchsin*, *Tryparosan*, *Flavicid* und *Trypaflavin* zum Verschwinden; für den Vorgang dieses Verschwindens, das sich wohl stets gelegentlich der Teilung vollzieht, konnte wenigstens beim ölsauren Parafuchsin eine ganz bestimmte Gesetzmäßigkeit erkannt und nachgewiesen werden, daß der Blepharoblast ohne vorherige kernwärts gerichtete Wanderung *an Ort und Stelle aufgelöst* wird; gleichzeitig ergaben sich *Wechselbeziehungen zwischen Kern, Blepharoblast und Geißel*, deren Erforschung uns weitere Einblicke in die Lebensvorgänge der Urtierzelle verspricht. Bei manchen, vornehmlich schwach wirkenden Mitteln erfährt das *Teilungsbestreben* einen anfänglichen Impuls, so beim *Parafuchsin* und beim *Trypasafrol*. Dagegen wurde *keine gehemmte Teilung* bei dem in hohen Dosen angewandten „Bayer 205" gefunden, wie sie *Mayer* und *Zeiss* beobachteten[14]), deren Präparate ich durchgesehen habe.

Schließlich harren noch eine Reihe von teils schon beschriebenen Nebenbefunden, wie der der *Blepharoblastvakuole* bei Tryp. *equiperdum* und *equinum*, der *geblähten Hinterenden* und der (vielleicht aus ihnen hervorgehenden) *Kugelformen*, teils von meines Wissens bisher nicht beschriebenen, wie derjenige der „*klaffenden*" *(?) Hinterenden bei normalen Trypanosomen* noch der endgültigen Aufklärung, ebenso bedarf die Frage, ob tatsächlich, wie es den Anschein hat, in kugelige Tropfen verflüssigte Körper am Hinterende ausgestoßen werden können, noch gründlicher Prüfung. Endlich ergab die Betrachtung der geplatzten Trypanosomenleichen die Tatsache, daß die Körperhülle des Trypano-

soms bei entsprechender mechanischer Einwirkung von außen in zwei Teile zerreißt; die Zerreißung beginnt stets am Hinterende.

Ein Vergleich der drei untersuchten Trypanosomenarten zeigt, daß bezüglich ihrer Empfindlichkeit Heilmitteln gegenüber keine wesentlichen Unterschiede bestehen. Im allgemeinen reagierte am *raschesten und intensivsten Tryp. brucei*, am *langsamsten Tryp. equiperdum*, während Tryp. equinum in dieser Hinsicht eher näher bei Tryp. brucei als bei Tryp. equiperdum steht. Als besondere Eigentümlichkeit der Tryp. *equinum* und *equiperdum* ist „Vorliebe" für *Blepharoblastvakuolen*, und zwar auch schon unter anscheinend physiologischen Verhältnissen, zu erwähnen; bei Tryp. brucei treten diese Vakuolen sehr viel seltener auf. Vergleiche über das Verschwinden des Blepharoblasten konnte ich leider nicht anstellen, da es mir nur bei Tryp. brucei gelungen ist, Tiere bei *akuter* Behandlung lange genug am Leben zu erhalten. Die *Neigung zur Abkugelung* ist stark ausgeprägt bei Tryp. *equiperdum* und Tryp. *equinum*, dagegen fand ich bei Tryp. brucei diese Veränderung nur äußerst selten, am deutlichsten noch unter dem Einfluß von Menschenserum, außerdem bei dem Versuch 22b mit Trypaflavin. „*Geblähte*" *Hinterenden* wurden bei allen drei Trypanosomen gleichmäßig beobachtet. —

Alles in allem sind, wie man sieht, viel mehr Fragen offen geblieben oder neu aufgeworfen worden, als es möglich war, im Rahmen dieser Arbeit befriedigend zu beantworten. Da ich aber von Anfang an in dieser Beziehung keine hochgespannten Erwartungen hegte, so bin ich trotz des im großen und ganzen negativen Ergebnisses gerne zufrieden, wenn es gelungen sein sollte, wenigstens auf *einige* der gestellten Fragen eine positive Antwort zu geben.

Sowohl bei der Versuchsanlage als auch bei der Beurteilung der Ergebnisse erfreute ich mich der steten Unterstützung von Herrn Prof. Dr. *M. Mayer*. Ihm möchte ich daher auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank aussprechen. Weiterhin aber bin ich den Herren Prof. Dr. *Giemsa* und Dr. *Zeiss* für ihre Unterstützung bei den Versuchen und Herrn Dr. *Reichenow* für seine wertvollen Ratschläge in protozoologischen Fragen zu großem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

[1]) *Blacklock, B.*, The vitality of, and changes undergone by, Trypanosomes in the cadaver of the animal host. Ann. trop. med. a. parasit. 1912, **6**, 57; 58—61, Taf. 5. — [2]) *Byloff, K.*, Studien über Trypanozoon Lewisi und Brucei. Sitzber. d. Kais. Akad. d. Wiss., Wien, math.-naturw. Kl., **116**, Abt. III, Febr. 1907. — [3]) *Ehrlich, P.*, Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 9—12. — [4]) *Ehrlich, P.*, Über die neuesten Ergebnisse der Trypanosomenforschung. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **13**, Beih. 6. 1909. — [5]) *Ehrlich, P.*, u. *Hata*, die experimentelle Therapie der Spirillosen. 1910. — [6]) *Elmassian, M.*, Sur



le mal de Caderas. Ann. Inst. Pasteur 1903, Nr. 4, S. 243ff. — [7]) *Gonder, R.*, Ein Parasit von Colpoda cucullus. Arch. f. Protistenk. **18**, 275ff. 1910. — [8]) *Hartmann, Max* und *v. Prowazek, S.*, Blepharoblast, Karyosom und Centrosom. Ein Beitrag zur Lehre von der Doppelkernigkeit der Zelle. Arch. f. Protistenk. **10**, 306. 1907. — [9]) *Hindle*, Degeneration phenomena of Tryp. gambiense. Pasaritology, **3**, 30, 12. 1910. — [10]) *Kolle, W.*, *Hartoch, O.*, *Rothermund, M.* und *Schürmann, W.*, Über neue Prinzipien und neue Präparate für die Therapie der Trypanosomeninfektionen. Dtsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 18. — [11]) *Krause, M.*, Trypanocide Wirkung methylinierter Fuchsinderivate und gekuppelter Safraninderivate. Leipzig 1919. — [12]) *Manson, Sir Patrick*, My experience of Trypanosomiasis in Europeans and the treatment with atoxyl and other drugs. Ann. trop. med. a. parasit. **2**. 1908. — [13]) *Manson-Bahr, Ph.*, Treatment of human Trypanosomiasis and Kalaazar by intravenous injections of acetyl-p-aminophenylstibiate of sodium. Brit. med. Journ. **2**, 235. 1920. — [14]) *Mayer, Martin* und *Zeiss, Heinz*, Versuche mit einem neuen Tsypanosomenheilmittel („Bayer 205") bei menschen- und tierpathogenen Trypanosomen. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **24**, 257ff. 1920. — [15]) *Mesnil, Felix* und *Nicolle, M.*, Traitement des Trypanosomiases par des „Couleurs de Benzidine". Ann. Inst. Pasteur. **20**, 417—448 u. 513—538. 1906. — [16]) *Mießner, H.* und *Berger, R.*, Chemotherapeutische Versuche mit „Bayer 205" bei Beschälseuche. Dtsch. tierärztl. Wochenschr. 1921, Nr. 11, S. 133ff. — [17]) *Moldovan*, Atoxyl, Salvarsan, Serum bei Nagana. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie **21**, 481. 1914. — [18]) *Moore* und *Breinl*, The cytology of the trypanosomes. Ann. trop. med. a. parasit. **3**, H. 1. 1907. — [19]) *McNeal*, The life-history of Trypanosoma Lewisi and Trypanosoma Brucei. Journ. of infect. Dis. **1**, Nr. 4, S. 517. 1904. — [20]) *Neven, Otto*, Über die Wirkungsweise der Arzneimittel bei Trypanosomiasis. Inaug.-Diss. Bern 1909. — [21]) *Prowazek, S.*, Einfluß von Säurelösungen niedrigster Konzentration auf die Zell- und Kernteilung. Arch. f. Entw.-Mech. d. Org. **25**, H. 4. 1908. — [22]) *v. Prowazek, S.*, Giftwirkung und Protoplasma. Arch. f. Protistenk. **18**, 221ff. 1918. — [23]) *Reichenow, Eduard*, Untersuchungen an Haematococcus pluvialis nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. Arb. Kais. Ges.-Amt **33**, 1. 1910. — [24]) *Ritz, H.*, Chemotherapeutische Versuche mit „Trypasafrol". Berl. klin. Wochenschr. 1913, Nr. 30. — [25]) *Ritz, H.*, Über Rezidive bei experimenteller Trypanosomiasis. Dtsch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 27 und Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **20**, H. 17. 1916. — [26]) *Roehl, W.*, Über Tryparosan. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therapie **1**, H. 1. 1908. — [27]) *Schmidt, Hans*, Die Pharmakosynthese organischer Antimonverbindungen. Pharmaz. Zeitg. 1920, Nr. 89. — [28]) *v. Schuckmann*, Über die Einwirkung von „Bayer 205" auf Trypanosomen außerhalb des Tierkörpers. Zentralbl. f. Bakt. 1921, Orig. **86**, H. 6. — [29]) *Schulemann, Werner*, Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen und ihre Bedeutung für Anatomie, Physiologie, Pathologie und Pharmakologie. Biochem. Zeitschr. **80**, H. 1 u. 2. 1917. — [30]) *Uhlenhuth*, *Hübener* und *Woithe*, Experimentelle Untersuchungen über Dourine mit besonderer Berücksichtigung der Atoxylbehandlung. Arb. Kais. Ges.-Amt. **27**, 256. 1907/08. — [31]) *Weber* und *Krause, M.*, Zur Farbstoffbehandlung der künstlichen Trypanosomeninfektion. Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 7. — [32]) *Wendelstadt*, Die Behandlung der Tsetsekrankheit mit Brillantgrün. Sitzungsb. d. Niederrhein. Ges. f. Nat.- u. Heilkde. Bonn, 1906, Sitzung v. 22. I. 1906. — [33]) *Wendelstadt* und *Fellmer*, Einwirkung von Brillantgrün auf Naganatrypanosomen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **52**, 263. 1906. — [34]) *Werbetzki*, Über blepharoblastlose Trypanosomen. Zentralbl. f. Bakt. 1910, Orig. **53**, S. 303. — [35]) *Yakimoff, W. L.*, Zur Atoxylbehandlung der experimentellen Dourine. Dtsch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 16. — [36]) *Yakimoff, W. L.*, Zur Frage der Behandlung der Dourine mit Atoxyl. Zeitschr. f. Infektionskrankh.,



parasit. Krankh. u. Hyg. d. Haustiere **9**, H. 5 u. 6. 1911. — [37]) *Reichenow, Ed.*, Untersuchungen über das Verhalten von Trypanosoma gambiense im menschlichen Körper. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **94**, H. 2/3. 1921.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I.

Abb. 1—34. *Wirkung des Atoxyls.*
Abb. 1—18. Auf Trypanosoma equiperdum (Abb. 1 *vor* der Behandlung).
Abb. 19—23. Auf Trypanosoma brucei (Abb. 19 *vor* der Behandlung).
Abb. 24—34. Auf Trypanosoma equinum (Abb. 24,25 *vor* der Behandlung).
Abb. 2, 3. Tr. equiperd. 4 Std. nach der Behandlung (Vers. 10).
Abb. 4, 5. Tr. equiperd. 6 Std. nach der Behandlung (Vers. 10).
Abb. 6—10. Tr. equiperd. 9 Std. nach der Behandlung (Vers. 10)
Abb. 11—18. Tr. equiperd. 13 Std. nach der Behandlung (Vers. 10).
Abb. 20, 21. Tr. brucei $^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 21).
Abb. 22. Tr. brucei $1^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 21).
Abb. 23. Tr. brucei $5^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 21).
Abb. 26, 27. Tr. equinum 2 Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 28. Tr. equinum 3 Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 29. Tr. equinum 6 Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 30. Tr. equinum $8^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 31, 33. Tr. equinum $14^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 32, 34. Tr. equinum 25 Std. nach der Behandlung (Vers. 20).
Abb. 35—85. *Wirkung des Brechweinsteins.*
Abb. 35—41. Auf Tryponosoma equiperdum.
Abb. 42—53. Auf Trypanosoma brucei (Abb. 42 *vor* der Behandlung).
Abb. 54—65. Auf Trypanosoma brucei (Abb. 54—56 *vor* der Behandlung).
Abb. 35—40. Tr. equiperd. $^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 19).
Abb. 41. Tr. equiperd. 1 Std. nach der Behandlung (Vers. 19).
Abb. 43—48. Tr. brucei $2^1/_4$ Std. nach der Behandlung (Vers. 14).
Abb. 49—52. Tr. brucei 3 Std. nach der Behandlung (Vers. 14).
Abb. 53. Tr. brucei $4^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 14).
Abb. 57—60. Tr. equinum $^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 23).
Abb. 61—64. Tr. equinum 2 Std. nach der Behandlung (Vers. 17).
Abb. 65. Tr. equinum 3 Std. nach der Behandlung (Vers. 17).
Abb. 66—87. *Wirkung des ölsauren Parafuchsins auf Trypanosoma brucei.*
Abb. 66, 67. $^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 68, 69. $1^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 70, 71. $4^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 72. $27^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 73—76. $29^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 77—79. $52^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 40).
Abb. 80—87. 3 Std. nach der Behandlung (Vers. 49) (abnorme Hinterendgestalt),
Abb. 88—100. *Wirkung des Tryparosans.*
Abb. 88—90. Auf Trypanosoma equiperdum.
Abb. 90. Auf Trypanosoma brucei.
Abb. 92—100. Auf Trypanosoma equinum.
Abb. 88. Tr. equiperd. $3^1/_4$ Std. nach der Behandlung (Vers. 45).
Abb. 89. Tr. equiperd. $26^1/_4$ Std. nach der Behandlung (Vers. 45).
Abb. 90. Tr. equiperd. 48 Std. nach der Behandlung (Vers. 45).
Abb. 91. Tr. brucei $13^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 27).
Abb. 92—94. Tr. equinum $2^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 28) (Blepharoblastvakuole).



Abb. 95—100. Tr. equinum 4 Std. nach der Behandlung (Vers. 28) (Abkugelung).
Abb. 101—162. *Wirkung des Trypaflavins.*
Abb. 101—119. Auf Trypanosoma equiperdum.
Abb. 120—133. Auf Trypanosoma brucei (Abb. 120 *vor* der Behandlung).
Abb. 134—162. Auf Trypanosoma equinum (Abb. 134 *vor* der Behandlung).
Abb. 101—105. Tr. equiperd. 4 Std. nach der Behandlung (Vers. 11).
Abb. 106—111. Tr. equiperd. 6 Std. nach der Behandlung (Vers. 11).
Abb. 112—114. Tr. equiperd. 69 Std. nach der Behandlung (Vers. 11).
Abb. 115—119. Tr. equiperd. 25 Std. nach der Behandlung (Vers. 16).
Abb. 121—122. Tr. brucei $1^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 123—124. Tr. brucei $2^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 125—126. Tr. brucei 4 Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 127—128. Tr. brucei 6 Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 129. Tr. brucei $10^1/_2$ Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 130, 131. Tr. brucei 14 Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 132, 133. Tr. brucei 27 Std. nach der Behandlung (Vers. 22b).
Abb. 135—146. Tr. equinum 2 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 147—149. Tr. equinum 3 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 150, 151. Tr. equinum 4 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 152, 153. Tr. equinum 6 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 154. Tr. equinum 9 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 155—157. Tr. equinum 15 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 158—162. Tr. equinum 25 Std. nach der Behandlung (Vers. 18).
Abb. 163—170. *Wirkung des Trypanrots auf Trypanosoma equinum.*
Abb. 163—164. 24 Std. nach der Behandlung (Vers. 38).
Abb. 165—170. 27 Std. nach der Behandlung (Vers. 38).

(Aus der II. Medizinischen Klinik der Charité. [Direktor: Geh.-Rat *F. Kraus*].)

Klinisches und serologisches Verhalten des Paratyphus B Breslau.

Von

Dr. **Holm**, und Privatdozent Dr. **F. H. Lewy**,
Stabsarzt der Reichswehr, kdt. zur Klinik. Assistent der Klinik.

Mit 1 Textabbildung.

Seit durch *Flügge* und *Kaensche* aus der Gruppe des *Paratyphus B* der *Stamm Breslau* als Erreger einer Fleischvergiftung isoliert worden ist, ist verschiedentlich darauf hingewiesen worden, daß, abgesehen von einer Reihe für den Menschen nicht in Frage kommender Arten, besonders der ursprüngliche Paratyphus B *(Schottmüller)* und der genannte Typ Breslau kulturell zu trennen sind. Daneben wären noch Erreger der Enteritisgruppe *(Gärtner)* zu erwähnen, die aber durch ihre Reaktion im allgemeinen ohne weiteres zu unterscheiden sind. *Selter* hat den Versuch gemacht, eine serologische Klarstellung und Unterscheidung der erstgenannten beiden Typen des Para B zu erzielen. Er hat 37 Stämme verschiedener Genese mit 3 verschiedenen Para B-Seren und einigen Seren der Suipestifer-Gruppe agglutiniert und festgestellt, daß sich mindestens 2 Untergruppen abtrennen ließen. Ferner fand sich, daß die Stämme des Typus Breslau einen größeren Receptorenapparat besitzen müssen, da das Serum vom Typus Breslau die Stämme vom Typus *Schottmüller* fast in gleicher Höhe agglutiniert, wie das bereits *Trautmann* festgestellt hatte (Zeitschr. f. Hyg. **45**, *Selter*, Zeitschr. f. Hyg. **81**). Ob die Vertreter der einen Art vorwiegend typische typhusähnliche Erkrankungen hervorrufen, die der anderen die Erreger der Fleischvergiftungen darstellen, läßt *Selter* offen. Auch hat er Absättigungsversuche nicht vorgenommen.

Weiter als *Selter* geht *Bitter*, der sich in mehreren Arbeiten mit der Frage nach der Besondersartigkeit des Breslautyps beschäftigt hat. In seiner Veröffentlichung über eine durch Makrelen hervorgerufene Fleischvergiftungsepidemie hat er nicht nur kulturell und biologisch scharfe Unterschiede zwischen den Typen *Schottmüller* und *Breslau* formuliert, sondern auch die Vermutung ausgesprochen, daß in der Tat der erstere Typ eine typhusähnliche Erkrankung hervorrufe,



während den Breslaustämmen das Bild der Fleischvergiftung zur Last fiele. Serologische Versuche über die Verwandtschaft der Fleischvergifter vom Typus Breslau untereinander und gegenüber dem *Schottmüller*schen Typ sind dann mit monovalenten Seren sowie mittels des *Castellani*schen Absättigungsversuches von *Pfeiler* und in großem Umfange von *Manteufel*, *Zschucke* und *Berger* und *Manteufel* und *Berger*[1]) (das. s. d. Literatur) gemacht worden.

Zwei Fälle paratyphöser Erkrankung, von denen der eine vorwiegend unter dem Bilde eines echten Typhus, der andere als Fleischvergiftung verlief, und bei denen sich beide Male Bacillen fanden, die der Breslaugruppe zugerechnet werden müssen, gaben uns Veranlassung, *die Beziehungen der beiden Varianten des Para B zum klinischen Bild, sowie die serologische Verwandtschaft der Typen untereinander zu untersuchen.*

Fall 1. Patient von M., 39 Jahre alt, von Beruf Zollinspektor.

Anamnese: Keine hereditären Krankheiten, als Kind stets gesund gewesen. Mit 33 Jahren infolge Überanstrengung akute Herzerweiterung. Nach $^1/_2$jähriger ärztlicher Behandlung leidlich wieder hergestellt. Nur noch bei körperlichen Anstrengungen wie Treppensteigen usw. gelegentlich Herzbeschwerden. Alkohol- und Nicotinmißbrauch sowie Infectio sexualis werden negiert.

Am 2. IX. 1920 erkrankte Pat., nachdem er mittags sog. Brisolettes, die anscheinend aus nicht ganz einwandfreiem Fleisch hergestellt waren, nur mit Widerwillen genossen hatte, 2 Stunden später mit Übelkeit und allgemeinem körperlichen Unbehagen. Der Kopf wurde benommen, es stellte sich ein Schüttelfrost ein, danach stieg die Körperwärme auf 38,5°. Gegen Abend mußte Pat. mehrmals stark erbrechen, schließlich reine Galle. Die Benommenheit wurde stärker, es stellten sich heftige Kopfschmerzen und schweres allgemeines Krankheitsgefühl ein. In den nächsten 8 Tagen blieb dies schwere Krankheitsbild unverändert. Die Temperatur schwankte zwischen 38 und 39° C, es traten Durchfälle auf. Die Stühle sahen gelblich, lehmig aus, enthielten angeblich zeitweise Schleim, nie aber Blut. Während der Defäkation und unmittelbar danach Übelkeit, die sich wiederholt bis zum Erbrechen steigerte. Pat. litt stark unter Durstgefühl. Er wurde ärztlich mit Abführmittel (Ricinusöl) und gelegentlichen Schwitzprozeduren sowie diätetisch behandelt. Am 10. IX. 1920 überwies ihn der behandelnde Arzt als typhusverdächtig der Infektionsabteilung des Charité-Krankenhauses.

Bei der Aufnahme machte Pat. einen ausgesprochen typhösen Eindruck. Das Sensorium war mäßig getrübt; blieb Pat. sich selbst überlassen, dämmerte er vor sich hin, ohne aber wirklichen Schlaf zu finden.

Status praesens: Mittelgroß, kräftig gebaut, in leidlich gutem Ernährungszustand. Haut trocken und heiß. Auf der Haut der Brust und des Bauches zahlreiche kleine linsengroße, blaßrote Flecken. Scleren und Schleimhaut des Mundes leicht ikterisch. Lippen trocken, Zunge trocken, stark grauweiß belegt. Rachenorgane im übrigen o. B. Temperatur 39°. Puls 100, mittelkräftig, regelmäßig, weich, deutlich dikrot. Gefäßrohr nicht sklerosiert. Blutdruck, gemessen nach Riva-Rocci, 115/80 mm Hg. Lungen o. B.

---

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol. I., Orig. 87, S. 161. 1921.

Herz: Leises systolisches Geräusch über der Mitralis. Leib im ganzen etwas aufgetrieben, zur Zeit aber nur in der Lebergegend leicht druckschmerzhaft.

Leber überragt den Rippenbogen in der Brustwarzenlinie um etwa 3 Fingerbreiten, fühlt sich prall an, ist nicht höckerig.

Ein *Milztumor* ist *nicht* nachweisbar.

Urin: Alb.-, Sacch.-, Bilirubin-, Diazo-Reaktion —.

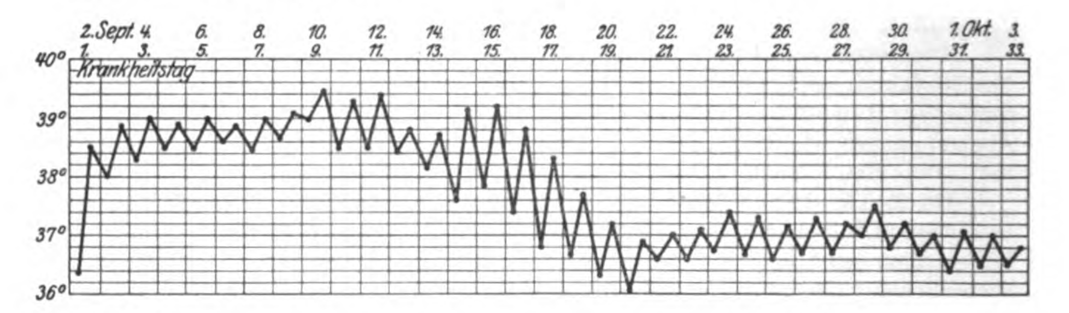
Stuhl gelblich, breiig, enthält keinen Schleim, kein Blut.

Zahl der weißen Blutkörperchen 5800.

Zahlenverhältnis der einzelnen Formen der weißen Blutkörperchen zueinander normal.

Nervensystem: Sensorium mäßig getrübt, auf Anruf gibt Pat. aber Auskunft. Schlaf schlecht. Mäßige motorische Unruhe, keine Delirien. Im übrigen am Nervensystem nichts Besonderes.

Bakteriologischer Befund: Aus dem Stuhl wurden Paratyphus-B-Bacillen vom Typ Breslau gezüchtet. Blut auf Galle blieb steril. Das Ergebnis der genaueren bakteriologischen und serologischen Untersuchungen siehe in den weiter unten folgenden Tabellen.



Verlauf: Über die Temperaturverhältnisse ist folgendes zu sagen: In den ersten 6 Tagen nach der Aufnahme bestand eine Febris continua um 39° mit Tagesschwankungen von 1°, im Verlauf weiterer 5 Tage fiel das Fieber treppenförmig ab, mit großen Tagesschwankungen bis fast 2°. Am 21. IX. hatte die Temperatur zum ersten Male normale Werte erreicht. Der Puls war dauernd nur wenig beschleunigt (etwa 96), weich, dikrot. Vom 24.—29. IX. nochmals leicht erhöhte Temperaturen (bis 37,5°), dann endgültige Entfieberung.

Während der Behandlung auf der hiesigen Station wurde Erbrechen nicht mehr beobachtet, der Appetit fehlte zunächst völlig, die Stühle waren breiig, von gelbbräunlicher Farbe, enthielten nie Schleim oder Blut. Die Zahl der Stühle am Tage verschieden, meist 1, zuweilen 3, zeitweise bestand Verstopfung. Wesentliche Leibschmerzen bestanden nicht, nur das Gefühl der Völle im Leib quälte den Pat. oft, namentlich in den ersten Tagen nach der Aufnahme und erneut in der Zeit des leichten Rezidivs (24.—29. IX.). Mit dem Beginn der großen Tagesschwankungen (etwa vom 16. IX. ab) trat eine deutliche Besserung des Befindens und ein Zurückgehen der klinischen Symptome ein. Der Leib wurde weicher, die Leberschwellung ging zurück, die Zunge reinigte sich und wurde feucht, die subikterische Färbung der Scleren und der Mundschleimhaut schwand, der Stuhl wurde konsistenter, der Appetit hob sich etwas, das Gefühl der Völle im Leib wurde geringer und seltener, das Sensorium wurde freier, der Schlaf besser, die Unruhe ließ nach, desgleichen die Kopfschmerzen. Die Roseola schwand erst am 25. IX. völlig, ohne daß größere Nachschübe deutlich erkennbar gewesen wären. Die Milz war während der ganzen Zeit nie deutlich palpabel gewesen; die Leber blieb zunächst noch etwas vergrößert. Gleichzeitig mit dem Auftreten

leicht erhöhter Temperaturen (vom 24.—29. IX.) war auch ein Aufflackern der übrigen Krankheitserscheinungen zu beobachten. Vom 1. X. ab nahm die Rekonvaleszenz einen gleichmäßigen ungestörten Verlauf. Vom 6. X. ab wies die Temperatur nur noch Tagesschwankungen von wenigen Zehntelgraden auf und blieb fast ständig unter 36,8°. Am 9. X. konnten aber aus dem Stuhl noch Para-B-Bacillen vom Typ Breslau gezüchtet werden.

Die Behandlung hatte in warmen Leibumschlägen und Gaben von Kalomel (anfangs täglich zweimal 0,3 g, später nach Bedarf) bestanden. Als am 9. X. noch die bakteriologische Stuhluntersuchung positiv ausgefallen war, wurden erneut täglich ein- bis zweimal 0,3 g Kalomel verabfolgt. Der Stuhl wurde hierbei erneut ungeformt. Im Urin wurde nie Albumen bemerkt, die Mundschleimhaut blieb intakt. Am 19. X. wurde das Kalomel endgültig ausgesetzt. Im Stuhl waren nunmehr bei wiederholten Untersuchungen keine Para-B-(Breslau-)Bacillen mehr nachweisbar.

Bei der Entlassung am 23. X. 1920 war Pat. völlig beschwerdefrei, hatte sich leidlich erholt, sein Aussehen war frisch, die Zunge feucht und rot, der Appetit rege, die Verdauung regelmäßig, täglich 2 Stühle von normaler Beschaffenheit, der Schlaf gut. Der Leib war weich, nirgends druckempfindlich, die Leber überragte den Rippenbogen in der Mamillarlinie etwa um 1 Fingerbreite und war weich.

Klinische Zusammenfassung: Stürmisches akutes Einsetzen unter dem Bilde der Fleischvergiftung, schnelles Erreichen eines ausgesprochen typhösen Krankheitsbildes, das etwa einem mittelschweren Typhus in der 2. Krankheitswoche entspricht, weiterer Verlauf wie der eines Typhus.

Fall 2. Patient P., 36 Jahre alt, von Beruf Konsulatsbeamter.

Anamnese: Frühere Vorgeschichte o. B.

Pat. wurde am 19. VI. 1920 wegen einer diphtherischen Erkrankung der Nasenhöhle und beider Kieferhöhlen, die im Anschluß an eine fieberhafte Halsentzündung (Mandeldiphtherie?) aufgetreten war, in das Charité-Krankenhaus aufgenommen. Im Verlauf dieser Krankheit stellten sich Insuffizienzerscheinungen des Herzens mit Stauung in Lunge und Leber, ferner Erscheinungen einer Glomerulo-Nephritis und schließlich postdiphtherische Lähmungen am Akkommodationsapparat der Augen, am Gaumensegel sowie an der Muskulatur des Rückens und der Gliedmaßen ein. Während die lokalen Krankheitserscheinungen der Nasenhöhle und der Kieferhöhlen sowie die Erscheinungen seitens des Herzens, der Lunge, Leber und der Nieren allmählich zurückgingen bzw. ganz schwanden, trotzten die Lähmungen, wie leider meist, zunächst jeglicher Therapie.

Am 24. X. 1920 bekam Pat. etwa 3 Stunden nach dem Genuß einer geräucherten Makrele, die in Aussehen und Geschmack völlig einwandfrei war, plötzlich starke Übelkeit, Erbrechen, Leibschmerzen und Durchfälle. Der Stuhl war dünnflüssig und von brauner Farbe. Im Laufe des Tages wiederholte sich das Erbrechen mehrmals, die Durchfälle steigerten sich (9 Stühle am Tag), der Appetit lag gänzlich danieder, Pat. fühlte sich sehr schwach. Die Temperatur war wie in den letzten Wochen normal. Pat. wurde mit warmen Leibumschlägen und Kalomel behandelt. Der Leib war im ganzen etwas druckschmerzhaft, nicht aufgetrieben; es bestand keine Leber- oder Milzschwellung. Am nächsten Tage hielten die Durchfälle in unverminderter Stärke an. Pat. hatte 7 dünnflüssige, bräunliche Stühle. Die Leibschmerzen ließen etwas nach, das Erbrechen hörte auf, jedoch bestand noch starke Übelkeit. Während Pat. bis zum Mittag seit Beginn der gastrointestinalen Erscheinungen gefastet hatte, genoß er am Nachmittag etwas Schleimsuppe, die er bei sich behielt. Der Urinbefund war regelrecht.

Die Temperatur blieb weiter normal. Am 3. Krankheitstage wurden die Stühle konsistenter und an Zahl geringer (5 pro die); außer großer Mattigkeit hatte Pat. keine Beschwerden mehr. Im Laufe der folgenden Tage besserte sich der Appetit und hob sich das Allgemeinbefinden wesentlich, und in auffälligem, zum mindesten zeitlichem Zusammenhange mit der überstandenen Nahrungsmittelvergiftung gingen nunmehr auch die postdiphtherischen Lähmungserscheinungen an der Muskulatur des Rumpfes und der Extremitäten in schnellem Tempo zurück. Während Pat. bis dahin zeitweise völlig hilflos im Bett gelegen hatte und nicht einmal das bequem stehende Nachtgeschirr selbst ergreifen konnte, vermochte er am 5. XI. 1920 schon am Stock mit Unterstützung der Pflegerin zu gehen. Pat. selbst äußerte sich in drastischer Weise: Er fühle sich wie neu geboren. Die Annahme liegt nahe, daß der chronische Krankheitszustand der postdiphtherischen Lähmungen durch die interkurrente akute Nahrungsmittelvergiftung im Sinne einer Steigerung der Reaktionsfähigkeit des Gesamtorganismus günstig beeinflußt worden war.

Die *bakteriologische Untersuchung* des Falles hatte folgendes Ergebnis gehabt: Untersuchung von Resten der Makrele negativ für Keime der Typhusgruppe. Aus dem Stuhl des Pat. wurden Paratyphus-B-Bacillen vom Typ Breslau gezüchtet. Serologische Untersuchungen bestätigten das Vorliegen einer Infektion durch den Breslaubacillus als Ursache der interkurrenten Gastroenteritis.

Klinische Zusammenfassung: Akute Gastroenteritis von kurzer Dauer mit den üblichen Erscheinungen des Brechdurchfalles, Leibschmerzen und Hinfälligkeit (dabei aber kein Fieber), hervorgerufen durch eine Nahrungsmittelvergiftung (Makrele ?), deren Urheber ein Bacillus aus der Paratyphus B-Reihe vom Typ Breslau war.

Bakteriologischer und serologischer Befund.

Aus der bunten Reihe (Tab. I) zeigt sich, daß ein charakteristischer Unterschied zwischen den beiden Stämmen unserer Fälle und dem uns freundlichst von Professor *Bitter* zur Verfügung gestellten Stamm Breslau (Makrele) einerseits, den Vergleichsstämmen vom Typ *Schottmüller* andererseits, die zum Teil aus dem Stuhl gezogen, z. T. ganz atypisch waren, wie der Stamm Dr. *Anton*, *nicht* abzuleiten war, höchstens daß in Neutralrotagar geringe Differenzen in dem Sinne vorlagen, daß unsere beiden Stämme und der Stamm Breslau *stark* sprengten, während die Vergleichsstämme wenig oder gar nicht gegast haben. Den typischen Farbumschlag im Chinablau, auf den *Bitter* großen Wert legt, gaben auch unsere Vergleichsstämme.

Was das Wachstum bei Zimmertemperatur betrifft, so war es auf unseren Nährböden und denen des Pathologischen Institutes auch bei frisch aus dem Körper gezogenen Para B-Stämmen, die sicher dem *Schottmüller*schen Typ angehörten, nicht möglich, eine deutliche Wallbildung festzustellen. Wir erblicken hierin aber keinen Gegensatz zu den *Bitter*schen Befunden, da es ja eine alte Erfahrung ist, daß oft geringe Differenzen in der Herstellung der Nährböden erhebliche Wachstumsdifferenzen zeitigen können. Vielleicht liegt der Unterschied z. B. in der Verwendung von Placenten statt Fleisch zu Bouillon begründet.



Tabelle I.

	Lackmusmolke	Chinablau	Peptonwasser	Barsikow	Neutralrotagar
Breslau	**24.** gerötet, leicht trübe	stark blau	kein Indol	Säure, Gerinnung	stark gesprengt
	25. blau	desgl.	—	—	—
	—	**26.** aufgehellt	—	—	—
v. M. . .	**24.** leicht gerötet, heller	stark blau, leicht trübe	kein Indol	Säure, Gerinnung	nicht gesprengt
	25. blau	desgl.	—	—	—
	—	**26.** aufgehellt	—	—	—
	29. sandfarben	tiefblau, leicht getrübt	—	—	stark phosphor.
	30. etwas rötlich	etwas heller, sonst ebenso	—	—	stark gesprengt
P. . . .	**24.** leicht gerötet, leicht trübe	stark blau, leicht trübe	kein Indol	Säure, Gerinnung	stark gesprengt
	25. blau	desgl.	—	—	—
	—	**26.** aufgehellt	—	—	—
	29. wenig trübe	tiefblau, klar	—	—	Blasen i. Stich u. daneben
Para B (Stuhl)	**24.** stark gerötet, leicht trübe	stark blau, leicht trübe	kein Indol	Säure, Gerinnung	nicht gesprengt
	25. desgl.	desgl.	–	—	—
	26. heller	desgl.	—	—	—
	29. leicht gerötet, leicht trübe	tiefblau	—	—	keine Gasbildung
	30. desgl.	heller, klar	—	—	—
Para B (Kiel)	**24.** gerötet, klar	stark blau, klar	kein Indol	Säure, Gerinnung	Gasbildung
	25. blau, etwas trübe	desgl.	—	—	—
	—	**26.** etwas heller, trübe	—	—	—
Para B (Hyg. Institut)	**24.** gerötet, leicht trübe	stark blau, leicht trübe	kein Indol	Säure, Gerinnung	Gasbildung nicht gespr.
	25. blau	desgl.	—	—	—
	—	**26.** aufgehellt, tiefblau	– –	—	—
	29. leicht gerötet, trübe	tiefblau, klar	—	—	leichte Gasbildung
	—	**30.** leicht trübe	—	—	—
Dr. Anton	**24.** unveränd.	leicht aufgehellt, klar	leichte Trübung	unveränd.	leichte Gasbildung
	25. desgl.	desgl.			—
	29. desgl.	ganz hellblau, klar	kein Indol	—	leichte Blasen

Viel charakteristischer erscheinen dagegen die *serologischen Befunde*. An Stämmen standen zur Verfügung die bereits eben für die Tab. I verwandten Stämme, an Seren ein mit dem Stamm P. und dem Stamm v. M. vom Kaninchen gewonnenes mit einem Titer von 1 : 20 000, ein Para B-Serum des Reichsgesundheitsamtes vom Titer 1 : 15 000 und ein uns freundlichst von Professor *Bitter* übersandtes des Kieler Makrelenstammes Breslau vom Titer 1 : 5000. Die Tab. II

Tabelle II.

	Serum P.	Serum v. M.	Serum Breslau	Serum Para B
Breslau	20 000	12 800 +	5000	12 800
von M.	20 000 ±	20 000	5000	12 800
P.	20 000	20 000	5000	12 800
Para B Stuhl	20 000	12 800	5000	12 800
Para B Kiel	20 000	12 800	5000	12 800
Para B Hyg.-Inst. . .	20 000	20 000	5000	12 800
Dr. Anton	20 000	12 800	—	12 800
Titer	1 : 20 000		1 : 5000	1 : 15 000

zeigt, daß sämtliche Stämme vom Serum P. und vom Serum Para B sowie mit Ausnahme des Stammes *Anton* auch vom Serum Breslau bis zur Titergrenze agglutiniert wurden, daß dagegen das Serum v. M. nur unsere beiden Stämme und den B-Stamm des Hyg. Inst. bis zu Ende, die übrigen etwas niedriger agglutiniert hat. Dieser letztere Unterschied fällt wenig ins Gewicht. Man kann also im ganzen sagen, daß mit Ausnahme des auch kulturell abweichenden Stammes *Anton* sämtliche Stämme, also die vom Typ Breslau wie die vom Typ *Schottmüller* von sämtlichen Seren ausagglutiniert wurden. Auf diese Weise ließ sich also eine weitere Trennung nicht ermöglichen.

Wir sind infolgedessen dazu übergegangen, durch Absättigungsversuche das Verhältnis des Receptorenapparates zu klären, und zwar haben wir, wie die Tab. 3—6 ergibt, das Breslauserum jeweils mit *einem* Stamm des Breslautyps abgesättigt und seine agglutinierende Wirkung auf die beiden andern festgestellt. Die Titergrenze lag, wie schon festgestellt, um 5000. Der gekreuzte *Castellani* zeigt, daß das mit einem Stamm des Breslautypus z. B. dem Kieler Stamm abgesättigte Serum keine Receptoren mehr für unsere beiden Stämme enthielt und umgekehrt.

Tabelle III.
Austitrierung der Stämme Kiel (Makrele), P., M. mit Serum Breslau.

Stamm	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
Makrele Kiel .	+++	+++	++	+	±	—
P.	++	++	++	+	+	— (?)
von M.	+++	+++	+++	+	±	—



Tabelle IV.
Austitrierung des Serums Breslau *ausgefällt mit Stamm Kiel* (Makrele).

Stamm	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
Makrele Kiel .	+++	±	—	—	—	—
P.	+++	—	—	—	—	—
von M.	+++	±	—	—	—	—

Tabelle V.
Austitrierung des Serums Breslau *ausgefällt mit Stamm P.*

Stamm	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
P.	±	—	—	—	—	—
Makrele Kiel .	++	+	— (?)	— ? (±)	—	—
von M.	+++	±	—	—	—	—

Tabelle VI.
Austitrierung des Serums Breslau *ausgefällt mit Stamm von M.*

Stamm	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
von M.	—	—	—	—	—	—
Makrele Kiel .	±	(±)	—	—	—	—
P.	±	—	—	—	—	—

Da die Ausfällung der Seren eine unglaubliche Menge Kultur erforderte, so wurde keine ganz komplette Absättigung erzielt. Unklarheiten können dadurch aber nicht entstehen, da jedenfalls die Restagglutination nach der Ausfällung für alle 3 Stämme gleich hoch ging und 1 : 400 nie überschritt, während vorher normalerweise Werte bis über 3200 erreicht wurden.

Aus diesen Versuchen kann man den Schluß ziehen, daß der *Kieler* Makrelenstamm von *Bitter*, der Stamm *Messenhausen* und *Peter* serologisch völlig identisch sind. Da sie sich auch biologisch untereinander nicht unterscheiden, so kann man wohl ohne weiteres sagen, daß alle drei dem Typ Breslau angehören.

War mit diesem Versuch die Verwandtschaft der Breslaustämme untereinander als eine sehr enge serologisch gekennzeichnet, so blieb noch die Frage offen, wie sich die Breslaustämme zu den *Schottmüller*-stämmen verhielten. Zu diesem Zweck wurde ein gekreuzter *Castellani* mit dem Stamm *M.* und einem sicheren Stamm vom *Hamburger* Typ angestellt. Tab. VII zeigt das Resultat.

Tabelle VII.
Breslauer Serum mit von M. ausgefällt.

Stamm	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12 800
von M.	—	—	—	—	—	—
Para B	+++	++	++	+	— (?)	— (?)

Tabelle VIII.
Para B-Serum mit Para B-Stamm ausgefällt.

Stamm	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12 800
Para B	—	—	—	—	—	—
von M.	+++	+++	++	+	— (?)	— (?)

Sowohl das Breslauserum hat nach Absättigung mit *M.* noch freie Receptoren zur Agglutination des Para B-Stammes bis zum Endtiter wie auch umgekehrt, wenn auch bei letzterem Versuch die Titergrenze nicht erreicht wurde.

Daraus ergibt sich, daß die Verwandtschaft zwischen dem Typ Breslau und dem *Schottmüller* serologisch entschieden weniger eng ist als die der Breslaustämme ganz verschiedener Genese und unterschiedlichen klinischen Verlaufs untereinander. Bestätigt wird die Anschauung *Selters* und *Trautmanns* von dem größeren Receptorenapparat der Breslaustämme. Denn das mit *M.* ausgefällte Breslauserum ballt den *Schottmüller*stamm bis zum Endtiter, während das B-Serum umgekehrt den Stamm M. nur noch bis 3500 statt bis 12 500 agglutiniert.

Fassen wir die serologischen Ergebnisse zusammen, und stellen wir sie in Parallele mit dem klinischen Verlauf der beiden Erkrankungen, so müssen wir sagen: Die von uns in beiden Fällen gezüchteten Keime sind als vollkommen identisch mit dem von Bitter in seiner Makrelenepidemie gezüchteten Stamm Breslau anzusehen, insofern sich alle drei gegenseitig völlig ausfällten.

Demgegenüber ist der eine von unseren Fällen, abgesehen vom akuten Beginn, als ein fast typischer klinischer Typhus mit einer zweiwöchigen Kontinua, amphibolem Stadium und kleinem Rezidiv verlaufen, während der andere im Anschluß an den Genuß von Makrelen nur unter dem Bilde eines akuten Brechdurchfalls erkrankt ist, von dem er sich bereits nach drei Tagen völlig erholt hatte.

Während *Bitter*, ebenso wie *Selter* und *Trautmann* darin völlig beizupflichten ist, daß bakteriologisch die Variante *Breslau* des Para B-Stammes von der des Typs *Schottmüller* zu sondern ist, bestätigt sich an unseren beiden Fällen die Erfährung *Bitters* nicht, daß die zu ersterer Gruppe gehörigen Keime *stets* unter dem Bilde der Fleischvergiftung auftreten. Daß auch das Umgekehrte der Fall sein kann, dafür wird *Henius* einen sehr instruktiven Fall aus der hiesigen Klinik veröffentlichen, in dem im Verlaufe eines chronisch rezidivierenden Para B, der nach Monaten tödlich endete, und aus dem der eine von uns (L.) einen zum Typ *Schottmüller* gehörenden Erreger züchtete, neben einer typischtyphösen Erkrankung Rückfälle auftraten, die unter dem Bilde des Brechdurchfalls verliefen.

Es wird also in Zukunft bei jedem Para B festzustellen sein, ob er dem Typ *Schottmüller* oder *Breslau* angehört. Glaubt der Untersucher

diesen Schluß allein aus kulturellen Besonderheiten ziehen zu können, so wird das bei gelegentlicher Kontrolle durch den Bindungsversuch im allgemeinen genügen, im anderen Fall liefert der Agglutinationsversuch, evtl. der *Castellani*, wir wir gezeigt haben, ganz eindeutige Resultate. Auf diese Weise dürfte sich an einem größeren Material bald nachweisen lassen, wie häufig der Typ *Schottmüller* Brechdurchfälle, der andere klinische Typhen veranlaßt. Daß eine gewisse Vorliebe des *Breslau* für die Fleischvergiftung und umgekehrt vorliegt, soll keineswegs in Frage gestellt werden. Ob aber die Abweichungen seltene Ausnahmen darstellen oder sich häufiger finden, das kann nur an der Hand eines großen Materials statistisch nachgewiesen werden.

Die sog. Nahrungsmittelvergifter vom Para B-Stamm, gleichgültig, wie sie klinisch verlaufen, sind untereinander als identisch in ihrem serologischen Verhalten anzusehen, sind aber mit der Variante Schottmüller bei weitem weniger verwandt als untereinander. Sämtliche Seren agglutinieren zwar sämtliche Para B-Stämme, bis auf eine Ausnahme sogar bis zum Endtiter mit, aber im Absättigungsversuch zeigt sich doch, daß der Receptorenapparat eine gewisse Selbständigkeit nach beiden Seiten hin besitzen muß.

Daraus ergibt sich, daß die Forderung *Selters*, nur mit monovalenten Seren zu arbeiten, die natürlich durchaus berechtigt ist, praktisch sich nur bis zu einem gewissen Grade durchführen lassen wird. Sehen wir doch, daß Seren, die nur aus einem Stamm gewonnen sind, unter Umständen doch alle anderen, auch die abweichenden Typen, ausagglutinieren. Die fein- und grobkörnigen Agglutinationen weichen zwar in ihrem Titer in geringem Grade voneinander ab, aber daraus lassen sich irgendwelche Schlüsse auch nicht ziehen. Vielleicht gelingt es, sei es zufällig oder durch Passagen, Stämme zu erhalten, die ein weitgehender spezifisches Serum liefern und eine direkte Trennung der *Breslau-* und *Schottmüller*typen allein durch den Agglutinationsgrad ermöglichen. Jedenfalls sollte mehr als bisher auf die engere Variantenzugehörigkeit der verschiedenen menschenpathogenen Para B-Bacillen geachtet werden.

Aus den neueren Untersuchungen von *Schiff* (Zeitschr. f. Immun.-Forschg. 1922) geht hervor, daß bei Berücksichtigung des Doppeltyps der Receptoren (thermostabile und thermolabile nach *Weil* und *Felix*) sich sowohl für den *Schottmüller*- wie den *Breslau*typ spezifische Gruppen im Receptorenapparat nachweisen lassen. Hiermit stimmt grundsätzlich die neuste Arbeit von *J. Führt* (Prag) (Wiener klin. Wochenschr. 1922) überein. Diese Technik konnte in der vorliegenden Arbeit noch nicht berücksichtigt werden. Es muß daher offen bleiben, ob bei einer serologischen Untersuchung nach den *Schiff*schen Gesichtspunkten die Übereinstimmung mit der Klinik eine vollständigere gewesen sein würde.



(Aus dem klinischen Institut der 2. med. Klinik München [Prof. *F. v. Müller*].)

Der Einfluß chemotherapeutischer Silberpräparate auf die physiologische Bactericidie des menschlichen Gesamtblutes in vitro.

Von

Professor Dr. **Hugo Kämmerer** und Dr. **Ludwig Schaetz.**

Bei der Beurteilung des Wertes chemotherapeutischer Substanzen und der Erfassung ihres komplizierten Einflusses auf den Organismus ist unseres Wissens bisher nicht in Rechnung gezogen worden, ob und wie die physiologischen bakterientötenden Kräfte des Blutes beeinflußt werden, sei es in förderndem oder hemmendem Sinn. Wir müssen bei Stoffen, deren Wirksamkeit am lebenden Menschen noch so wenig klar zutage liegt wie den Silberverbindungen, auf jede Möglichkeit erpicht sein, die uns Aufschluß über die Art ihrer Wirkung gibt. Manche Autoren wollen Reagensglasversuche zur Prüfung chemotherapeutischer Substanzen als überflüssig und wenig besagend über Bord werfen. *Neufeld*[1]) und seine Schüler haben aber festgestellt, daß die bactericide Wirkung chemotherapeutischer Mittel in vivo und in vitro parallel gehe. *Klapp*[2]) hebt mit Recht hervor, daß das natürlich nur von der Wirkung auf die Infektionserreger selbst gelten könne, während die Reagensglasversuche die Frage offen ließen, wie die Stoffe auf die lebenden, im natürlichen Zusammenhang gebliebenen Gewebe wirken. Ebenso wie die Wirkung auf die Infektionserreger selbst können wir aber auch die Wirkung auf gewisse Eigenschaften des Blutes in vitro darstellen, für deren Nachweis wir eben geeignete Reagensglasmethoden besitzen — hier auf seine physiologische antibakterielle Kraft.

Allerdings hat *Morgenroth*[1]) eine Versuchsanordnung für Mäuse ausgearbeitet, die bei der Prüfung chemotherapeutischer Präparate in vivo für gewisse Bakterien anscheinend Vorzügliches leistet und die Dosis festzustellen gestattet, die eine zur Rettung des Tieres hinreichende bactericide Wirkung entfaltet. Aber auch diese Versuchsanordnung gestattet schließlich nur die Beantwortung eines Teiles der Frage: Wie wirkt ein Mittel beim lebenden *Menschen* gegen bestimmte Bakterien?

[1]) *Neufeld* und *Schiemann*, Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 31.
[2]) Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 46.

Denn abgesehen von der verschiedenen Wirkung der *Bakterien* auf Maus und Mensch ist sicher auch die Reaktion der Maus auf das *Mittel* nicht identisch mit der des Menschen. Wenn auch der Versuch in vivo an Wert die Glasversuche in den meisten Fällen übertrifft, so ist die Lösung der mit dem Reagensglasversuch angreifbaren Fragen doch keineswegs überflüssig, besonders wenn wir so in der Lage sind, mit *menschlichem* und nicht mit tierischem Blut zu arbeiten. Die bactericide Kraft des Blutes nur an Serum oder Plasma studieren zu wollen, wäre für den vorliegenden Zweck falsch. Komplement und Amboceptor sind nicht die einzigen Substanzen, sondern die corpusculären Elemente, vor allem die Leukocyten sind wichtige bactericide Faktoren. Wir können mit Leichtigkeit die das Plasma weit übertreffende Wirkung des Gesamtblutes feststellen. Eine Sonderung der einzelnen Komponenten vorzunehmen, hat aber für unsere auf die praktische chemotherapeutische Wirkung hinzielende Frage keine Bedeutung. Wir stellten uns also die Aufgabe: Kann man beim Zusammenbringen von frischem menschlichen Vollblut mit bestimmten Bakterien einerseits und bestimmten Silberverbindungen in einer entsprechenden Konzentration andererseits eine Förderung oder nach Umständen auch Schädigung der bactericiden Wirkung des Blutes nachweisen? Eine Schädigung wäre jedenfalls ein Warnungssignal, würde doch zum mindesten einen Teil der antibakteriellen Wirkung des Mittels illusorisch machen. Eine etwaige Förderung müßte sich dadurch kennzeichnen, daß eine die Summe der abtötenden Wirkungen des Blutes und des Mittels übertreffenden Bactericidie aufträte, was doch jedenfalls zugunsten des Präparates spräche.

Die Prüfung mit Vollblut hat aber noch eine weitere Bedeutung. Die Untersuchung von intravenös anzuwendenden chemotherapeutischen Substanzen mit einfachen Bouillon- und Agarnährböden ohne Blut hat wenig Wert, selbst wenn Serum zugesetzt war. Denn es ist nicht darauf Rücksicht genommen, daß in vivo das Mittel mit dem gesamten Eiweiß und den corpusculären Elementen des Blutes, ja überhaupt allen seinen Bestandteilen in physikalisch-chemische Beziehungen tritt, welche die bacteriotrope und bactericide Wirkung des Mittels stark beeinträchtigen können. Wollen wir uns überhaupt in vitro ein Urteil über die bactericide Fähigkeit des Präparates bilden, so müssen wir es mit *Vollblut* zusammentun.

Von entsprechenden Versuchen mit Vollblut sind uns nur die Arbeiten *Schiemanns*[1]) bekannt, der defibriniertes Blut und Citratblut verwandte, wobei sich für Optochin und Salvarsan eine stark hemmende Wirkung gegenüber solchen Bakterien ergab, die von diesen Präparaten auch im Tierkörper deutlich beeinflußt wurden.

[1]) Klin. Wochenschr. 1922, Nr. 8.



Die Möglichkeit, daß etwa gerade kolloidale Silbersalze die normale Blutbactericidie ungünstig beeinflussen könnten, wird durch Versuche *Pettersons*[1]) nahegerückt, die feststellen, daß die Wirkung bactericider Substanzen des Serums und von Leukocytenextrakten durch Kolloide in ihrer Wirkung aufgehoben oder stark herabgesetzt werden können.

Seitdem *Credé* im Jahre 1895 das *Kollargol* in die Therapie der septischen Erkrankungen einführte, ist die chemische Industrie ununterbrochen an der Arbeit, neue Silberpräparate in den Handel zu bringen: neben dem Kollargol das ebenfalls auf chemischen Wege hergestellte und mit Schutzkolloiden versehene *Dispargen*, die durch elektrische Zerstäubung von Silber gewonnenen Präparate *Elektrokollargol*, *Elektrargol* und *Fulmargin*, das mit Methylenblau verbundene Silberpräparat *Argochrom*, dann das *Argoflavin*, eine Verbindung von Silber mit einem Akridinfarbstoff (dem Trypaflavin). In allerletzter Zeit endlich schickte uns die chemische Fabrik Heyden in Radebeul-Dresden Silberkolloide, die mit anderen *Schwermetallen* (Gold, Platin, Kupfer) kombiniert sind. Von den verschiedenartigen Wirkungen katalytischer antitoxischer, adsorptiver, leukocytärer Natur, die den Silberpräparaten in vivo zugeschrieben werden, kann, wie nochmals betont sei, bei unserer Versuchsanordnung keine Rede sein und nur ihre bakterientötende und -hemmende Kraft soll uns hier beschäftigen.

Die Versuche wurden alle nach folgenden Prinzipien angestellt: Es wurde das gesamte Blut verwendet, das der menschlichen Cubitalvene steril entnommen und dem zur Verhütung von Gerinnung eine kleine Menge Natriumoxalat 0,1 : 100,0 — zugesetzt war. Dieser geringe Zusatz bedingt keine in Betracht kommende Schädigung weder des Blutes noch der Bakterien, etwaige Fehler in dieser Richtung wurden durch entsprechenden Oxalatzusatz zu den Kontrollen ausgeschaltet. Als Bakterienkulturen verwendeten wir 12stündige Bouillonkulturen in einer 1000 bis 10 000fachen Verdünnung, die Verdünnungen wurden mit Rücksicht auf gutes Wachstum ebenfalls mit Bouillon hergestellt. Die Silberpräparate wurden in einer Verdünnung in den Versuch eingesetzt, die ungefähr den therapeutisch beim Erwachsenen in Betracht kommenden Dosen entspricht. Da es sich immer um intravenös zu injizierende Präparate handelt, so wurde berechnet, in welcher Verdünnung sich das Mittel kurz nach der Injektion im Blut befindet. Wir gingen dabei von der durchschnittlichen Blutmenge des Erwachsenen aus und nahmen als solche 5—6 Liter an, entsprechend den Resultaten die *Kämmerer* und *Waldmann*[2]) mit der *Behring*schen Methode erhalten hatten. Werden also z. B. 5 ccm einer 0,05 proz. Lösung

[1]) Zeitschr. f. Hyg. **77**, 74 und Zeitschr. f. Immunitätsf. **24**, 1.

[2]) Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Orig., **60**. 1911.



irgendeines Silberpräparates dem Erwachsenen injiziert bei einer Blutmenge von zirka 5 Litern, so ergeben sich für unseren Reagensglasversuch 2 ccm einer 0,00012 proz. Lösung.

Schwierigkeiten waren zu überwinden bezüglich der Verdünnungsweise der Silberpräparate. Die in der Praxis gebräuchliche Verdünnung mit destilliertem Wasser war nicht möglich wegen der eintretenden Hämolyse, physiologische Kochsalzlösung war nicht angängig, weil dadurch die Silberpräparate in ihrer kolloidalen Struktur verändert werden und ausflocken, bzw. eine Veränderung der Teilchengröße durch Verfärbung erkennen lassen. Nach den verschiedensten Versuchen gingen wir so vor, daß wir nach anfänglicher Verdünnung mit destilliertem Wasser zur letzten Verdünnung physiologische Kochsalzlösung verwandten, die durch geringen Zusatz von Bouillon oder inaktiviertem Serum über ein *Schutzkolloid* verfügte (NaClSe). In dieser Flüssigkeit blieben die Silberverbindungen glatt gelöst, ohne daß Hämolyse eintrat. Die einzelnen Versuche waren in der Regel nach folgendem Schema angeordnet:

1. Vollblut und Bakterien allein.
2. Vollblut, Bakterien und Silberpräparat.
3. Bakterien (ohne Blut und Silberpräparat) in gewöhnlicher Bouillon.
4. Silberpräparat und Bakterien ohne Blut.

Die Bakterienaufschwemmungen wurden mit Bouillon durch Verdünnung einer 20stündigen Bouillonkultur 1 : 1000 bis 1 : 10 000 hergestellt. Als allgemeine Verdünnungsflüssigkeit wurde physiologische Kochsalzlösung mit geringem Bouillon- und Oxalatzusatz (Menge entsprechend dem Oxalatblut) verwendet (= NaOxBu). Diese Flüssigkeiten wurden in den bei den einzelnen Versuchen angegebenen Mengenverhältnissen in Reagensgläser gebracht, gut gemischt und dann in den Brutschrank gestellt. Sämtliche Versuche wurden als Doppelversuche angesetzt, die Zahlen der Doppelversuche stehen in Klammern. Sofort nach der Mischung und nach der Entnahme aus dem Brutschrank wurden Agarplatten gegossen — 0,5 cmm Flüssigkeit auf 10 ccm Agar —, die wieder für 24 Stunden in den Brutschrank kamen. Dann wurden die aufgegangenen Keime in der üblichen Weise gezählt. Die in den Versuchen angegebenen Bakterienzahlen gelten für 10 ccm Agar in einer gewöhnlichen Petrischale.

1. Versuche mit Kollargol.

Einem erwachsenen Menschen werden für gewöhnlich zu therapeutischen Zwecken 10 ccm einer 2 proz. Kollargollösung intravenös injiziert.

[1]) Dtsch. Arch. f. klin. Med. **109**. 1913.

Wird die Blutmenge zu 6250 ccm (diese Zahl aus rechnerischen Gründen) angenommen, so ergibt sich, daß man 2,5 ccm Blut 2 ccm einer 0,004% Lösung zusetzen muß.

Versuch 1. Kollargol und Paratyphus.

	Aussaat	1,5 Std.	3 Std.
I. Oxalatblut + NaClSe	10 800 (8 100)	720 (450)	40 (21)
II. Oxalatblut + Kollargol 0,004%	11 700 (7 200)	450 (675)	21 (31)
III. NaClSe + Kollargol 0,004% . .	13 500 (14 400)	6 300 (13 500)	2700 (2250)
IV. NaClSe + NaClSe	13 500 (12 600)	23 500 (19 800)	∞ ∞
V. Oxalatblut + NaCl	10 100	450	12

Man erkennt die ausgesprochene bactericide Wirkung des Vollblutes allein. Nach Kollargolzusatz in einem beim lebenden Erwachsenen gebräuchlichen Konzentrationsverhältnis tritt jedoch keine Verstärkung der Bactericidie des Normalblutes ein. Kollargol ohne Blut wirkt deutlich bactericid. Also: *Die physiologische Bactericidie des Blutes wird durch Kollargol weder verstärkt noch abgeschwächt. Die in gewöhnlicher Bouillon nachweisbare Bactericidie des Kollargols geht offenbar in Vollblut verloren, da der Kollargolzusatz keine Verstärkung der normalen Bactericidie des Blutes bedingt.*

Tatsächlich bewiesen wird dieser Verlust der Bactericidie durch folgenden Versuch:

Versuch 2. Kollargol und Paratyphus.

	Aussaat	1,5 Std.	3 Std.
I. Oxalatblut + NaClSe	7200 (900)	200 (112)	0 (6)
II. *Hämolyt.* Oxalatblut + NaClSe .	4500 (9900)	10 800 (11 700)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Kollargol 0,004%.	6300 (360)	11 700 (5 400)	∞ (∞)

Hämolytisches Blut verliert seine bactericide Fähigkeit. Mit solchem zusammen zeigt Kollargol ebenfalls keine bactericide Wirkung wahrscheinlich infolge irgendwelcher physikalisch-chemischer Bindung an die Eiweißkörper und sonstigen kolloidalen Substanzen des Blutes.



Versuch 3. Kollargol und Paratyphus.

	Aussaat	1,5 Std.	3 Std.
I. Oxalatblut + Kollargol 0,004% .	3600 (4500)	270 (270)	27 (9)
II. Oxalatblut + Kollargol 0,008% .	3600 (3600)	360 (450)	21 (36)
III. Oxalatblut + Kollargol 0,012% .	3600 (2700)	27 (27)	18 (18)
IV. Oxalatblut + NaClSe	3600 (450)	360 (270)	9 (27)

Hier sind stärkere Kollargollösungen eingestellt. Auch die doppelte Konzentration von Kollargol (0,008%), entsprechend 10 ccm einer 4 proz. Lösung beim Erwachsenen, zeigt keine Verstärkung der Blutbactericidie. Bei Kollargol 0,012% ist nach $1^1/_2$ Stunden allerdings eine Zunahme der keimhemmenden Wirkung zu bemerken, die aber nach 3 Stunden wieder völlig verschwunden ist. Die hemmende Wirkung ist also offenbar nur gering und praktisch bei dem raschen Verschwinden des Kollargols und dem zirkulierenden Blut ohne Bedeutung.

Versuch 4. Kollargol und hämolytische Staphylokokken (1 : 1000).

	Aussaat	1,5 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaCl	1350 (1350)	20 700 (18 700)	21 600 (23 400)
II. Oxalatblut + Kollargol 0,008 .	2700 (2700)	13 500 (17 100)	17 100 (18 900)
III. NaCl + Kollargol 0,008% . . .	22 500	21 600	225

Das frische Vollblut allein hat bei dieser Konzentration der Staphylokokkenbouillon nicht hemmend auf die Bakterien gewirkt. Um so beweisender ist das Ausbleiben der Kollargolwirkung bei II.

Versuch 5. Kollargol und hämolytische Staphylokokken (1 : 3000).

	Aussaat	1,5 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaCl	7200 (6300)	3600 (3600)	2700 (2250)
II. Oxalatblut + Kollargol 0,008% .	3600 (4000)	2700 (2250)	1800 (2250)
III. NaCl + Kollargol 0,008% . . .	3600	3600	1800
IV. NaCl + Kollargol 0,008% (aber die letzte Verdünnung ohne Serumzusatz)	4500	900	18

Das frische Vollblut hat bei Staphylokokkenverdünnung 1 : 3000 — wenn auch mäßig — bactericid gewirkt im Gegensatz zu Staphylo-



kokkenverdünnung 1 : 1000 des vorigen Versuchs. Auch hier keine Verstärkung der Blutbactericidie durch Kollargol. Bei 3. Kollargol mit physiologischer Kochsalzlösung allein (mit dem üblichen kleinen Serumzusatz), die Kollargollösung hemmt ungefähr ebenso stark wie das Blut allein. Eine Kombination dieser beiden Hemmungswirkungen tritt aber bei 2 nicht ein.

Versuch 6. Kollargol und hämolytische Staphylokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	4500 (4050)	3600 (3600)	3600 (3600)	3600 (450)
II. NaOxBu	4500 (4500)	6300 (6900)	8500 (11700)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Kollargol 0,008%	4050 (4500)	3600 (3600)	3600 (3600)	1125 (900)
IV. Oxalatblut + Kollargol 0,004%	3100 (2700)	4500 (5400)	6300 (9000)	300 (19 800)
V. Oxalatblut + NaOxBu + Streptokokken 1 : 10 000	900 (1080)	1620 (1440)	5400 (4500)	∞ ∞

Im Vergleich zur Bouillon (II) ist eine deutliche, wenn auch schwache Hemmung der Staphylokokken durch Normalblut erkennbar. Der Zusatz von Kallorgol bedingt weder eine Verstärkung der Bactericidie, noch eine Abschwächung. Die im Reagensglasversuch ohne Blut nachweisbare Bactericidie des Kollargols wird im Vollblut aufgehoben.

Versuch 7. Kollargol und hämolytische Streptokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	225 (675)	900 (675)	2700 (2700)	6300 (2700)
II. NaOxBu	900 (900)	690 (700)	900 (900)	225 (675)
III. Oxalatblut + Kollargol 0,008%	670 (450)	1080 (900)	3100 (2700)	4050 (3600)
IV. NaOxBu + Kollargol 0,008% .	630 (300)	100 (280)	90 (θ)	θ (θ)

Streptococcus haemolyticus wächst im frischen Normalblut unbeschränkt. Das hat schon *Schottmüller*[1]) nachgewiesen und daraus eine Methode zum Nachweis der Virulenz verschiedener Streptokokkenarten und -stämme abgeleitet. Das Wachstum ist, wie wir an unserem Versuch sehen, in frischem Vollblut viel besser als in Bouillon, die eine

[1]) Beitr. z. Klin. d. Infektionskrankh. u. Immunitätsforsch.

gewisse Hemmung zu veranlassen scheint. Dieses ausgezeichnete Wachstum im Vollblut, das in so auffallendem Gegensatz besonders zum Verhalten des Paratyphus steht, wird durch Zusatz von Kollargol (0,008% entsprechend 10 ccm einer 4proz. Lösung beim Erwachsenen) nicht im geringsten gestört. Zu Bouillon allein zugesetzt, ohne Blut wirkt aber Kollargol stark hemmend (IV). Also gilt auch für Streptokokken: Eine Verstärkung der Bactericidie des Normalblutes tritt nicht ein, die im gewöhnlichen Reagensglasversuch nachweisbare bactericide Wirkung des Kollargols wird im Blut aufgehoben.

2. Versuche mit Argochrom.

Edelmann und *von Müller* bezeichnen das von ihnen dargestellte Methylenblausilber als Argochrom. Der Silbergehalt beträgt ungefähr 20%, das braune Pulver löst sich in Wasser mit dunkelblauer Farbe. Die chemische Affinität des Methylenblaus zur Bakterienzelle soll die antiseptische Einwirkung des Silbers verstärken, das Methylenblau soll nach der Vorstellung von *Edelmann* und *von Müller* als „Schiene" dienen, auf der das Silber an die Bakterien gelangt. Desinfektions- und Entwicklungshemmungsversuche des bakteriologischen Universitätsinstituts Halle a. S. ergaben noch bei Bouillonverdünnungen bis 1 : 200 000 für alle zur Untersuchung herangezogenen Bakterien (Diphtherie, Typhus, Staphylo- und Streptokokken) völlige Hemmung des Wachstums. Streptokokken und Typhusbacillen wurden noch in Argochromverdünnungen von 1 : 500 000 abgetötet. — Die gewöhnlich therapeutisch beim Erwachsenen intravenös angewandte Dosis ist 0,1—0,2 g in 10—20 ccm Wasser. Zur Berechnung der in unseren Versuchen zu verwendenden Verdünnung wurden auch hier wieder 6250 ccm Blut beim durchschnittlichen Erwachsenen angenommen und vorausgesetzt, daß für gewöhnlich 20 ccm einer 1proz. Lösung (0,2 : 20,0) intravenös injiziert werden. Man kommt so für unsere Versuchsanordnung auf eine 0,004proz. Lösung, von denen 2 ccm 2,5 ccm Vollblut zugesetzt werden.

Versuch 8. Argochrom und Paratyphus.

	Aussaat	1,5 Std.	3 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	9450 (9000)	140 (130)	θ (θ)
II. NaOxBu	9900 (9900)	18 000 (18 900)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Argochrom 0,005%	8100 (9900)	110 (140)	θ (θ)
IV. NaOxBu + Argochrom 0,005%	120 (280)	θ (θ)	θ (θ)

Das frische Vollblut allein wirkt auch hier stark hemmend auf Paratyphus. Ohne Blutzusatz nur in der Bouillon wirkt Argochrom sehr stark bactericid auf Paratyphus, schon die geringen Spuren, die bei der sofortigen Aussaat auf Agar in den Agarplatten vorhanden sind (0,0004%), genügen zu beträchtlicher Hemmung wie ein Vergleich von 2. und 4. zeigt. Wird die Argochromverdünnung aber dem Vollblut zugesetzt, so sehen wir keine größere Hemmung als bei Vollblut allein und in den sofort gegossenen Platten die bei 4. deutliche Argochromwirkung aufgehoben (9900 Keime zu 280 Keimen). Also: Die bactericide Wirkung des Vollblutes wird durch Argochrom weder verstärkt noch abgeschwächt, die in vitro nachweisbare bactericide Wirkung des Argochroms durch das Vollblut aufgehoben.

Versuch 9. Argochrom und hämolytische Streptokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBlut. . . .	675 (450)	450 (450)	420 (675)	1500 (1980)
II. NaOxBlut	460 (150)	630 (450)	810 (720)	450 (675)
III. Oxalatblut + Argochrom 0,005%	450 (420)	420 (420)	430 (360)	30 (25)
IV. NaOxBlut + Argochrom 0,005%	450 (540)	θ (θ)	θ (θ)	θ (θ)

Die Streptokokken werden wie in Versuch 7 durch das Vollblut nicht gehemmt, wachsen noch besser als in der Kontrolle. Die Argochromhemmung ohne Blut ist ziemlich stark. Mit Blut zusammen ist eine Hemmung erst nach 8 Stunden zu bemerken, vorher ist praktisch keine Schädigung der Bakterien nachweisbar. Ein so langes Verweilen des Argochroms im zirkulierenden Blut ist jedoch ausgeschlossen. Also auch hier keine Förderung der Blutbactericidie und Abnahme, d. h. fast völliger Verlust der Wirkung des Argochroms in gewöhnlichen Nährböden.

Versuch 10. Argochrom und hämolytische Staphylokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBlut. . . .	1800 (2700)	3100 (2250)	3100 (2400)	300 (280)
II. NaOxBlut	3100 (3100)	2900 (3200)	3100 (3100)	450 (1250)
III. Oxalatblut + Argochrom 0,005%	2000 (3800)	2420 (3800)	2500 (2200)	2700 (1700)
IV. NaOxBlut + Argochrom 0,005%	1800 (2700)	900 (1800)	70 (170)	70 (70)



Die bactericide Wirkung des Vollbluts allein kann als negativ bezeichnet werden. Die Wirkung des Argochroms (0,005%) zusammen mit Blut läßt aber ebensowenig eine bactericide Wirkung erkennen, im Gegenteil nach 8 Stunden ist das Bakterienwachstum hier noch reichlicher wie bei Vollblut allein. Die Hemmungswirkung des Argochroms in gewöhnlichen Nährböden gegen Staphylokokken ist deutlich.

3. *Versuche mit Argoflavin.*

Das Argoflavin ist eine Kombination des Trypaflavins mit Silber. Trypaflavin, d. i. Diaminomethylakridiniumchlorid, entfaltet nach den Versuchen von *Neufeld* und *Schiemann* von der Blutbahn aus im lebenden Körper bakterienabtötende Wirkung. *Browning*[1]), *Neufeld*[2]) und *Braun* stellten fest, daß Trypaflavin durch Gegenwart von Serum in seiner Wirkung nicht beeinträchtigt werde. Zu therapeutischen Zwecken werden Erwachsenen gewöhnlich 2 ccm einer 0,5 proz. Lösung injiziert. Bei Annahme einer Gesamtblutmenge von 6250 ccm müssen also 2,5 ccm Blut 2 ccm einer 0,0002 proz. Lösung gebracht werden. Da aber auch bis zu 40 ccm einer 0,5 proz. Lösung eingespritzt werden, folgen auch Versuche mit 2 ccm einer 0,004 proz. Lösung.

Versuch 11. Argoflavin und hämolytische Streptokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBlut. . . .	450 (270)	330 (360)	225 (400)	3600 (1800)
II. NaOxBlut	310 (360)	420 (390)	360 (360)	220 (240)
III. Oxalatblut + Argoflavin 0,0005%	390 (310)	360 (270)	225 (330)	90 (180)
IV. NaOxBlut + Argoflavin 0,0005%	200 (450)	650 (270)	300 (390)	110 (130)

Zunächst ist auch hier wieder zu sehen, daß der Streptococcus haemolyticus im frischen Vollblut ungehemmt wächst, besser als in der Kontrolle, die nur hämolytisches Blut und weniger enthält. Bei Zusatz von Argoflavin 0,0005 ist erst nach 8 stündiger Einwirkung eine gewisse Hemmung nachweisbar, während nach 4 Stunden noch nichts von einer bactericiden Wirkung feststellbar ist. Auch bei Zusatz von 0,001% ist kein Unterschied gegenüber 0,0005% bemerkbar. Auffallend ist, wie wenig das Argoflavin in der zur Injektion üblichen Verdünnung auch in der Kontrollflüssigkeit, die nur ganz wenig Blut enthält, hemmend wirkt. Wir sehen also, daß das Argoflavin in der üblichen Kon-

[1]) Brit. med. Journ. 1917.

[2]) l. c.



zentration nur eine äußerst geringe, in vivo wegen des raschen Verschwindens aus dem zirkulierenden Blut wohl kaum in Betracht kommende Bactericidie im Vollblut entfaltet.

Versuch 12. Argoflavin mit Streptococcus viridans.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	3500 (3050)	1700 (3100)	1600 (1600)	1 700 (1 300)
II. NaOxBu	2800 (3050)	4000 (5500)	6300 (6200)	23 400 (19 800)
III. Oxalatblut + Argoflavin 0,005%	2200 (3100)	2200 (2200)	810 (1800)	270 (225)
IV. NaOxBu + Argoflavin 0,005%	3600 (3300)	θ (θ)	θ (θ)	θ (θ)

Im Gegensatz zu Streptococcus haemolyticus im frischen Vollblut allein geringe aber deutliche Hemmung, dagegen unbeschränktes Wachstum in der Oxalatbouillon ohne Blut. Die Zugabe von Argoflavin in einer beim erwachsenen Menschen im Blut bei der gewöhnlichen Dosierung in Betracht kommenden Konzentration hat noch nach 4 Stunden keinen deutlichen Einfluß auf die Bactericidie, die ungefähr die gleiche ist wie ohne Argoflavin. Nach 8 Stunden durch Argoflavin anscheinend eine geringe Hemmung, die jedoch unbedeutend ist. Jedenfalls im großen und ganzen keine wesentliche Beeinflussung der Blutbactericidie, insbesondere nicht in der Zeit, in der das Argoflavin im Blut kreist.

Versuch 13. Argoflavin und hämolytische Staphylokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	4050 (3100)	5400 (3300)	4500 (3600)	27 000 (27 000)
II. NaOxBu	3600 (3900)	6300 (6300)	9000 (8100)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Argoflavin 0,0005%	2900 (4000)	4900 (5200)	3900 (3100)	27 000 (36 000)
IV. NaOxBu + Argoflavin 0,0005%	2800 (4050)	θ (θ)	θ (θ)	θ (θ)

Eine Hemmungswirkung des frischen Vollblutes auf Staphylokokken ist aus dem Vergleich von 1 und 2 nachweisbar, doch ist sie recht schwach, lange nicht so stark wie auf Paratyphusbacillen, Argoflavin verstärkt diese schwache Bactericidie nicht im geringsten, schwächt sie allerdings auch nicht ab. Das ist um so bemerkenswerter als die bactericide Wirkung in der gewöhnlichen Bouillon eine sehr starke ist (im Gegensatz



zum vorigen Versuch mit Streptokokken, bei denen zur Ermöglichung eines guten Wachstums allerdings etwas Blut zugesetzt wurde). Die Trypaflavinwirkung wird nach *Neufeld* u. a. durch Serum nicht geschädigt, das Trypaflavin wirkt ins Blut injiziert beim Lebenden bactericid, aber diese Wirkung läßt sich wie ersichtlich in diesen Vollblutversuchen und in einer beim lebenden Menschen angewandten Konzentration nicht demonstrieren.

4. *Versuche mit Fulmargin.*

Fulmargin ist eine etwa 1 prom. Lösung kolloidalen Silbers, das durch elektrische Zerstäubung hergestellt ist. Es entfaltet vor allem eine katalytische Wirkung, die nach Angabe der Literatur jene von auf chemischem Weg hergestellten kolloidalen Silberlösungen übertreffen soll. — Die gewöhnliche intravenöse Dosis beim Erwachsenen ist 5 ccm einer 0,1 proz. Lösung. Eine Gesamtblutmenge von 6250 ccm vorausgesetzt müßten also zu 2,5 ccm Blut 2 ccm einer 0,0001 proz. Verdünnung von Fulmargin gebracht werden. Wir fügten jedoch die doppelte Menge 0,0002% hinzu.

Versuche 14 und 15. Fulmargin und Paratyphusbacillen.

	Aussaat	1,5 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	4500 (3600)	120 (10)	260 (θ)
II. NaOxBu	3000 (1800)	6300 (3600)	13 500 (22 500)
III. Oxalatblut+Fulmargin 0,0002%	3600 (4000)	θ (θ)	θ (θ)
IV. NaOxBu + Fulmargin 0,0002%	3600 (3600)	θ (θ)	θ (θ)
I. Oxalatblut + NaOxBu	9090 (8000)	1750 (1700)	360 (370)
II. NaOxBu.	9900 (13500)	14400 (20700)	∞ (∞)
III. Oxalatblut+Fulmargin 0,00015%	9900 (10000)	100 (3400)	45 (81)
IV. NaOxBu + Fulmargin 0,00015%	9500 (7200)	θ (θ)	θ (θ)

Fulmargin in 2 verschiedenen Konzentrationen 0,0002% und 0,00015% und Paratyphusbacillen in 2 verschieden starken Aufschwemmungen 1 : 2000 und 1 : 1000. Beim 2. Versuch also die geringere Fulmarginmenge auf die größere Zahl der Bakterien. Beide Versuche (die ja wie immer an sich Doppelversuche sind) verliefen in gleichem Sinn. Starke Hemmung der Paratyphusbacillen durch das Vollblut



allein. Bemerkenswerterweise verstärkt der Fulmarginzusatz in der bei der praktischen Therapie üblichen Konzentration diese Bactericidie besonders in den Mengenverhältnissen des Versuches 14. Bei Versuch 15 ist die Wirkung erst nach 3 Stunden deutlich. Die bactericide Wirkung des Fulmargins ohne Blut in der Bouillon allein ist in beiden Versuchen stark. Wir haben also hier zum ersten Mal durch eine Silberverbindung eine Bactericidie im Vollblut erzielt, welche die bactericide Wirkung des Vollblutes allein deutlich übertrifft. Eine Schädigung der normalen Vollblutbactericidie hat nicht stattgefunden, die Zunahme der Wirkung dürfte wohl auf eine Kombination der bactericiden Kraft des Vollblutes und des Fulmargins zurückzuführen sein. Jedenfalls ist diese Erklärung naheliegender als die einer Verstärkung der physiologischen Bactericidie des Vollblutes.

Versuch 16. Fulmargin und hämolytische Streptokokken (1 : 10 000).

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	1125 (1230)	4950 (5700)	25200 (32400)	∞ (∞)
II. NaOxBu	1250 (1300)	1800 (810)	1400 (225)	θ (θ)
III. Oxalatblut + Fulmargin 0,0002%	1350 (1260)	3780 (7650)	33000 (30000)	∞ (∞)
IV. NaOxBu + Fulmargin 0,0002%	1170 (1260)	θ (θ)	θ (θ)	θ (θ)

Wie gewöhnlich ungehemmtes Wachstum der Streptokokken im frischen Vollblut, während die Keime in der mit Natriumoxalat versetzten Nährbouillon langsam abnehmen. Zusatz von Fulmargin zum Blut ist völlig wirkungslos, es wachsen ebensoviel Keime wie ohne Fulmargin. Die Streptokokken sind also im Vollblut gegen Fulmargin resistenter wie Paratyphus, während sie im gewöhnlichen Reagensglasversuch mit Bouillon stark gehemmt werden.

Versuch 17. Fulmargin und hämolytische Staphylokokken.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	3100 (3100)	3500 (3100)	2250 (2900)	θ[1]) (160)
II. NaOxBu	3500 (3500)	3200 (4000)	5900 (6300)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Fulmargin 0,0002%	2700 (2900)	3200 (3100)	2900 (2300)	148 (400)
IV. NaOxBu + Fulmargin 0,0002%	3000 (3000)	900 (16)	θ (θ)	θ (θ)

[1]) Nach 48 Stunden unendlich viele, ganz kleine Kolonien.



Auch hier wieder werden die Staphylokokken durch frisches Vollblut gehemmt, wenn auch bedeutend schwächer und langsamer wie Paratyphus. Auch hier fehlt jede verstärkende Hemmungswirkung des Fulmargins im Vollblut, während die Wirkung in Bouillon sehr stark ist.

5. *Versuche mit Dispargen.*

Dispargen ist wie das Kollargol ein auf chemischem Wege hergestelltes und mit Schutzkolloiden versehenes kolloidales Silberpräparat. *Leschke*[1]) hat Dispargen ebenso wie Kollargol auf seine bactericide Wirkung untersucht. Er kommt zur Ansicht, daß diese Präparate als „echt chemo-therapeutische Mittel“ wirken, was sich darin kundgebe, daß ihre bakterientötende Kraft im Gegensatz zu anderen Desinfektionsmitteln (wie Sublimat, Karbolsäure usw.) und in Analogie mit den Chininderivaten (Morgenroth) im Blutserum bzw. Ascites nicht nennenswert abgeschwächt werde. Für Dispargen ergab sich ihm eine Abtötung von Streptokokken und Staphylokokken nach 20 Stunden in Verdünnung von 1 : 4 bis 5000. Vollblut verwendete *Leschke* nicht. Bei Voraussetzung einer Gesamtblutmenge von 6250 ccm und einer durchschnittlichen Dosis beim Erwachsenen von 2 ccm einer 2 proz. Lösung von Dispargen ergeben sich als Zusatz zu 2,5 ccm Vollblut 2 ccm einer 0,0008 proz. Lösung.

Versuch 18. Dispargen und Paratyphus.

	Aussaat	1,5 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	10800 (9900)	140 (48)	4 θ
II. NaOxBu	9000 (10800)	18000 (19800)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Dispargen 0,001%	8000 (10800)	32 (44)	θ (θ)
IV. NaOxBu + Dispargen 0,001%	10800 (11700)	13500 (1170)	900 (900)

Paratyphus wurde wie gewöhnlich vom Blut allein gut gehemmte starke Bactericidie. Diese Bactericidie wurde nach Zusatz von Dispargen kaum verstärkt, die geringe Verstärkung ist wohl innerhalb der Fehlerquelle. Die Hemmung von Dispargen in gewöhnlicher Bouillon ist nicht so stark wie die des frischen Vollbluts allein. Diese wird allerdings durch Dispargen auch nicht beeinträchtigt. Demnach ist also eine irgendwie deutliche antibakterielle Wirkung des Dispargens im Vollblut

[1]) Sepsis, im Handbuch von *Kraus-Brugsch*, 1918, Bd. 2.



nicht festzustellen, man sieht daraus, daß Versuche mit Ascites oder Serum allein noch nichts für die endgültige Wirkung im Vollblut beweisen.

Versuch 19. Dispargen und Streptococcus viridans.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	6700 (8100)	4600 (5800)	4700 (6200)	2400 (2250)
II. NaOxBu	8800 (9800)	15300 (14400)	36000 (>36000)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Dispargen 0,001%	7700 (7200)	6500 (4700)	4850 (4600)	2000 (2900)
IV. NaOxBu + Dispargen 0,001% .	10900 (11700)	12600 (18000)	>36000 (27000)	∞ (∞)

Auch hier zeigt sich wieder der Gegensatz zwischen Streptococcus haemolyticus und viridans. Bei diesem durch frisches Vollblut eine deutliche, wenn auch recht bescheidene Hemmung (etwa so wie bei Staphylokokkus und viel schwächer wie beim Paratyphus). Diese Hemmung bleibt nach Zusatz von Dispargen die gleiche, allerdings hemmt Dispargen in dieser Konzentration (0,001) und in gewöhnlicher Bouillon den Streptococcus viridans auch nicht — im Gegensatz zum Paratyphus.

Versuch 20. Dispargen und Streptococcus haemolyticus.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOx hämol. Blut	225 (270)	270 (225)	500 (450)	2700 (1800)
II. NaOx häm. Blut	225 (180)	360 (180)	630 (540)	540 (130)
III. Oxalatblut + Dispargen (0,001%)	180 (300)	450 (360)	500 (510)	9090 (400)
IV. NaOx hämol. Blut + Dispargen (0,001%)	270 (270)	200 (360)	720 (460)	810 (720)

Hier wurde für die Kontrolle nicht Oxalatbouillon, in der stets eine Wachstumshemmung des Streptococcus haemolyticus festzustellen war, verwendet, sondern hämolytisches Blut 1:10 verdünnt. Im Vergleich zu diesem, in dem die Streptokokken ausgezeichnet wachsen, läßt sich doch eine gewisse wachstumshemmende Einwirkung des frischen Vollbluts feststellen. Dispargen (0,001%) wirkt gar nicht, weder mit Blut, noch ohne Blut. Es bleibt jedoch die Hemmungswirkung des Blutes ungefähr die gleiche, also keine Störung der Bactericidie.



6. *Versuche mit Elektrokollargol Heyden mit und ohne verschiedene Schwermetallzusätze.*

Das Elektrokollargol wird ähnlich wie Fulmargin durch elektrische Zerstäubung gewonnen. In jüngster Zeit hat die chemische Fabrik von Heyden in Radebeul-Dresden Kombinationen ihres Elektrokollargols mit Metallen in den Handel gebracht, kombinierte kolloidale Metallösungen von Kupfer-Silber, Gold-Silber, Platin-Silber. Die Veranlassung für die Herstellung solcher Präparate war die Beobachtung, daß beim Einsetzen zweier Metallplatten in Wasser das unedlere Metall stärker in Lösung geht. *H. Bechhold*[1]) zeigte, daß Mischungen von kolloidalen Metallen stärker bactericid wirken als die Metalle jedes für sich, er nennt solche Metallkombinationen „disperse galvanische Ketten", die Wirksamkeit des unedlen Metalls werde erhöht. So werde beim Kupfer-Silberpräparat das Kupfer, bei Silber-Gold und Silber-, Platin das Silber „aktiviert". Wir untersuchten folgende Präparate:

1. Kombination einer elektrokolloidalen Kupferlösung mit einer elektrokolloidalen Silberlösung. Kupfergehalt 0,01%, Silbergehalt 0,03% in einer injektionsfertigen Ampulle 5 ccm.

2. Eine Lösung von elektrokolloidalem Silber und kolloidalem Gold. Silbergehalt 0,06%, Goldgehalt 0,006%. Ampulle zu 5 ccm.

3. Eine Lösung von elektrokolloidalem Silber und elektrokolloidalem Platinsilbergehalt 0,06%, Platingehalt 0,006%. Ampulle zu 5 ccm.

Versuch 21. Elektrokollargol und Silber-Platinverbindung mit hämolytischen Staphylokokken.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	7800 (5400)	10100 (8500)	8000 (8300)	∞ (∞)
II. NaOxBu	7650 (11700)	10200 (12900)	9000 (31500)	9630 (∞)
III. Oxalatblut + Elektrokollargol 0,0002%	6400 (7700)	6600 (8400)	7100 (7900)	∞ (45000)
IV. NaOxBu + Elektrokollargol 0,0002%	7500 (6700)	260 (300)	160 (340)	112 (340)
V. Oxalatblut + Heyden Nr. 412 (0,0002% Ag + 0,00002% Pt) .	9450 (8700)	9270 (9000)	8280 (10600)	∞ (45000)
VI. NaOxBu + Heyden Nr. 412 (0,0002% Ag + 0,00002% Pt) .	8900 (4000)	900 (900)	400 (260)	124 (72)

Dieses frische Vollblut zeigt im Gegensatz zu anderen keine Spur von Hemmung der Staphylokokken, die unbeschränkt wachsen, so

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. 24, 147. 1918.



daß gegenüber dem Wachstum in Bouillon allen kein greifbarer Unterschied besteht. Sowohl Elektrokollargol Heyden allein als Elektrokollargol mit Platin zeigen zusammen mit Blut nicht die geringste Verstärkung der Bactericidie, während sie ohne Blut eine sehr deutliche Hemmungswirkung zeigen und zwar interessanterweise Elektrokollargol allein mehr als mit Silber- und Platinzusatz. Der Versuch ergibt also: Die fehlende Blutbactericidie tritt auch nicht in Erscheinung nach Zusatz der untersuchten Silberverbindungen, deren eigene antibakterielle Wirkung durch das Blut aufgehoben wird.

Versuch 22. Elektrokollargol und Silber-Platinverbindung mit Streptokokken.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	7 (10)	4 (10)	θ (2)	14 (24)
II. Oxalatblut + Elektrokollargol 0,0002%	10 (14)	8 (5)	3 (6)	2 (21)
III. Oxalatblut + Heyden Nr. 412 (0,0002% Ag + 0,00002% Pt)	10 (7)	2 (5)	6 (6)	9 (32)

Ein Versuch, bei dem die geringe Keimzahl noch am ehesten eine Wirkung hätte erwarten lassen können. Es geht aber auch aus diesem Versuch wieder hervor, daß das frische Vollblut den Streptococcus haemolyticus nicht hemmt, daß aber auch Zusatz von Elektrokollargol Heyden und Elektrokollargol mit Platin eine Verstärkung der Bactericidie nicht veranlaßt.

Versuch 23. Silber-Kupfer- und Silber-Goldverbindung mit hämolytischen Streptokokken.

	Aussaat	2 Std.	4 Std.	8 Std.
I. Oxalatblut + NaOxBu	7200 (8100)	8100 (9900)	8100 (8100)	∞ (45000)
II. NaOxBu	7200 (9900)	12600 (14400)	16200 (18000)	∞ (∞)
III. Oxalatblut + Heyden Nr. 324 (0,0002% Ag + 0,00007% Cu) .	8100 (9000)	9000 (9900)	6300 (9900)	∞ (∞)
IV. NaOxBu + Heyden Nr. 324 . .	7200 (10800)	8100 (9000)	11700 (13500)	∞ (∞)
V. Oxalatblut + Heyden Nr. 411 (0,0002% Ag + 0,00002 Au) . .	8100 (10800)	8100 (12600)	8100 (4500)	∞ (∞)
VI. NaOxBu — Heyden Nr. 412 .	6300 (8100)	7200 (5400)	9000 (6300)	9000 (∞)

Also auch hier bleibt die Wirkung auf hämolytische Streptokokken im Vollblut allein völlig aus, die fehlende Bactericidie wird auch durch Zusatz dieser neuen Verbindung nicht zur Erscheinung gebracht.

Versuch 24. Silber-Platinverbindung und Elektrokollargol in verschiedenen Konzentrationen mit hämolytischen Streptokokken.

	Aussaat	8 Std.	5 Std.
I. Oxalatblut	900	45000	∞
	(1080)	(45000)	(∞)
II. Oxalatblut + Heyden 412 (0,001%) . . .	1350	45000	∞
II. Oxalatblut + Heyden 412 (0,005%) . . .	900	45000	∞
III. Oxalatblut + Heyden 412 (0,001%) . . .	1350	45000	∞
IV. Oxalatblut + Heyden 412 (0,0002%) . .	1170	45000	∞

Auch hier bei relativ sehr starker Konzentration keine stärkere Wirkung als bei der zuerst verwandten Konzentration, d. h. keine.

Wir sind am Schlusse. Überlegen wir uns das Gesamtergebnis unserer Versuche, so finden wir, daß sie der bakterienabtötenden Wirkung der Silberpräparate im Vollblut gerade kein glänzendes Zeugnis ausstellen. Aber es muß nochmals betont werden, daß die verschiedenartigen anderen Wirkungen, die den kolloidalen Silberpräparaten in vivo wahrscheinlich zukommen, bei den angeführten Reagensglasversuchen ja nicht zur Geltung kommen können. Diese anderen Wirkungen mögen einigen Nutzen stiften, eine direkte *Bakterienabtötung* oder auch nur wesentliche *Wachstumshemmung* vom Blut aus in den bisher angewandten Mengen der Mittel erscheint nach den obigen Ergebnissen doch auch im lebenden Körper sehr fragwürdig. Wir möchten für die Reagensglasprüfung chemo-therapeutischer Mittel auf ihre bakterientötende Fähigkeit noch einmal die Aufmerksamkeit auf den hier dargestellten *Vollblutbactericidieversuch* lenken, der doch weit besser als alle anderen Zusätze von Serum, Eiweißstoffen usw. die Verhältnisse im Körper nachahmt und zugleich einen Rückschluß auf die Beeinflussung der natürlichen bactericiden Kräfte des Blutes gestattet.

Zusammenfassung.

Nach den obigen mit frischem Gesamtblut ausgeführten Reagensglasversuchen scheint es nicht möglich zu sein, die *bactericide* Wirkung der untersuchten Silberpräparate in den bisher beim Erwachsenen angewandten Mengen dem Körper nutzbar zu machen (über die teils nachgewiesenen, teils vermuteten leukocytären, katalytischen und antitoxischen Wirkungen erlauben die Versuche kein Urteil). Durch das Vollblut wird schon in vitro die bactericide Wirkung wohl infolge Adsorption durch die corpusculären und kolloidalen Blutbestands-

teile, besonders Eiweißkörper, ganz oder zum größten Teil aufgehoben. Eine einzige Ausnahme ergab sich bei Einwirkung von Fulmargin auf Paratyphusbacillen. Durch dieses negative Ergebnis kommt zugleich zum Ausdruck, daß durch Zusatz der Silberpräparate zum Vollblut eine Vitalitätsabschwächung der Bakterien und dadurch eine Steigerung der physiologischen Blutbactericidie in irgendwie nennenswerter Weise nicht eintritt. Andererseits ließ sich aber auch feststellen, daß die physiologische Bactericidie des Vollbluts, soweit sie gegen die einzelnen Bakterienarten überhaupt nachweisbar ist, durch die Silberpräparate in den gewöhnlich therapeutisch angewandten Verdünnungen nicht beeinträchtigt wird.



(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Gießen [Direktor: Prof. Dr. *Gotschlich*].)

Vergleichende Ermüdungsmessungen mit einer psychophysischen Methode der Augenmaßprüfung.

Ein Beitrag zu den Meßmethoden der Ermüdung.

Von
Hermann Aubel, Gießen,
approbierter Arzt.

Mit 4 Textabbildungen.

Die Ärzte und Erzieher in Deutschland sind durch den unglücklichen Kriegsausgang vor große Aufgaben gestellt. Nachdem wir aus der Abrechnung des Krieges als alleinigen Faktor für den Wiederaufbau einzig unsere nackte Arbeitskraft gerettet haben, gilt es, diese mit allen Mitteln zu steigern und zu erhöhen und nicht zuletzt weise damit Haus zu halten. Die Leistungsfähigkeit des Volkes wie des Einzelnen kann um Bedeutendes vermehrt werden, wenn nur die wissenschaftlichen Grundlagen geschaffen sind für eine intensive Übung der Kräfte, ihre rationelle Anwendung und richtige Schonung. Steigerung der Arbeitsfähigkeit durch körperliche Erziehung, wie sie die neue Sportbewegung erstrebt, zweckmäßigster Gebrauch der Kräfte auf Grund einer Arbeitswissenschaft und Schutz vor Arbeitsschäden durch sozialhygienische Maßnahmen sind heute allgemein anerkannte Forderungen. Daß die Wissenschaft sofort mit aller Macht für diese Ziele arbeitet, ist eine zwingende Notwendigkeit unserer Notlage. Alle diese Bestrebungen werden der Ertüchtigung und Höherentwicklung unserer Rasse in körperlicher und geistiger Beziehung zugute kommen, wonach letzten Endes sämtliche Kulturbemühungen trachten. Es gab bis jetzt nur eine medizinische Wissenschaft, die sich damit beschäftigte, Kranke und Schwache zu heilen oder höchstens Gesundheitsschäden zu verhüten, wie die Hygiene eines ihrer Teilgebiete. Aber die Wissenschaft von der systematischen Steigerung der menschlichen Körper- und Geisteskräfte, die sogenannte Eugenik, ist noch in ihren Anfängen. Zur Lösung dieser Aufgabe ist in erster Linie der Arzt als der beste Kenner vom Wesen des Menschen berufen. Es kann nicht unsere Absicht sein, dem Menschen immer größere Anstrengungen zuzumuten, die alle seine Kräfte



in Anspruch nehmen, sondern ihm diejenige körperliche Erziehung angedeihen zu lassen und Methoden zu finden, die es ihm ermöglichen, unter möglichster Schonung des menschlichen Kraftvorrats die gewaltige Arbeit zu bewältigen, die unsere Zeit von uns fordert. Mit der Anerkennung dieser Zentralstellung der körperlichen wie geistigen Arbeitskraft und der Mittel zu ihrer Steigerung im Leben unseres Volkes, ist auch ihre selbständige wissenschaftliche Erforschung ohne weiteres gerechtfertigt. Hauptbedingung zur Erhöhung der Arbeitsleistungen des Menschen ist ihre wissenschaftliche Grundlegung, wie sie sich die neuentstandenen Institute für Arbeitswissenschaft und die Forschungs- und Lehrinstitute für Leibesübungen zur Aufgabe gestellt haben.

Das wichtigste gemeinsame Problem dieser Gebiete ist die Ermüdung. Aus der Fülle der Aufgaben heraus ist das Ermüdungsproblem vielfach als erste in Angriff genommen, schon um die dringenden Bedürfnisse des praktischen Lebens zu befriedigen. Die Frage beschäftigte bereits seit langem die Hygiene als allgemeine Gesundheitslehre und ganz besonders die Sozialhygiene, die die gesundheitlichen Verhältnisse des erwerbenden und arbeitenden Menschen, sowie des ganzen Volkes und einzelner Volksgruppen im Auge hat. Letzten Endes ist die Ermüdung ein physiologisch-chemisches Problem. Da es sich aber in der Hygiene weniger um theoretisch-kausale Untersuchungen handelt, als um die Feststellung der sich daraus ergebenden praktischen Schlußfolgerungen, so kommt als Hauptaufgabe nicht sowohl die Ergründung des qualitativen Charakters der Ermüdung als vielmehr ihre Messung in Frage. Es handelt sich um *Ermüdungsmessungen physiologischer* und *psychologischer Art*, wie sie bereits von den verschiedensten Autoren angegeben wurden, ohne aber den Anforderungen auf praktische Verwendbarkeit in allen Fällen gerecht werden zu können.

Es ist mir die Aufgabe zuteil geworden, mit einer von Herrn Prof. Dr. *Gotschlich* zu diesem Zwecke empfohlenen psychophysischen Methode zur Prüfung des Augenmaßes, die sehr geeignet erscheint, zahlenmäßige Feststellungen über den Grad der Ermüdung zu machen, an geeigneten Personen Versuche anzustellen und über die Ergebnisse zu berichten. Die angegebene Methode bietet die Möglichkeit der Erfüllung von 2 Aufgaben, 1. aus der Kenntnis des Individuums auf das Verhalten der Gruppen zu schließen; 2. kann für das Einzelindividuum die zeitlich wiederholte Untersuchung zur objektiven Feststellung des Ermüdungsgrades und der Ermüdbarkeit führen, wodurch die Abhängigkeit von nur ausschließlich subjektiven Deutungen auf diesem Gebiet beseitigt ist.

Es handelt sich um eine *Prüfung des Augenmaßes* an kleinen, wie an großen Strecken *durch Streckenvergleichung*. Die Methode hat den großen Vorzug der Einfachheit und Klarheit. Versuchsgerät und Ver-



suchsanordnung sind denkbar leicht herzustellen. Der Versuchsperson wurden 2 Tabellen mit je 30 parallelen Strecken, in wagrechter Richtung verlaufend, vorgelegt (s. Abb. 1). Ihre Größe betrug für die kurzen Strecken (A) 35 bis 65 mm, für die langen Strecken (E) 185—215 mm. Innerhalb jeder Gruppe ist der Unterschied von Strecke zu Strecke je 1 mm groß. Die Reihenfolge wurde unregelmäßig gewählt, damit die Strecken von benachbarter Größe nicht untereinander zu stehen kamen, wodurch die Unterscheidung für die Versuchsperson allzu deutlich geworden wäre. Zu der Streckentabelle wurde auf besonderem Blatt die zu vergleichende Strecke vorgezeigt und an die Versuchsperson die Aufgabe gerichtet, innerhalb einer Minute in der Tabelle eine Strecke von der gleichen Größe aufzusuchen. Dieser Versuch wurde in jeder Gruppe (A und E) mit je 3 verschieden großen Vergleichsstrecken unternommen, für die kurzen Strecken $A_1 = 45$ mm, $A_2 = 50$ mm, $A_3 = 55$ mm, für die langen Strecken $E_1 = 195$ mm, $E_2 = 200$ mm, $E_3 = 205$ mm. Um Zufallsresultate zu vermeiden, wurde

Abb. 1. a) Vergleichsstrecken.

Abb. 1. b) Tabelle der kurzen Strecken (35—65 mm).





jede Strecke 2 mal vorgezeigt, so daß insgesamt die Prüfung in jeder der beiden Gruppen aus 6 Einzelversuchen bestand. Um diese Methode für unsere Aufgaben zu verwenden, zur Feststellung der Ermüdungswirkung der verschiedenen Arbeitsgruppen, wurden die oben geschilderten Versuchsreihen bei jeder Versuchsperson am Morgen vor der Arbeit und abends nach der Arbeit vorgenommen. Es ist ohne weiteres einleuchtend, daß aus dem Vergleich beider Resultate sich wichtige Schlüsse auf den ermüdenden Einfluß der Arbeit ziehen lassen.

Die Hauptforderung, die an eine psychologische Methode gestellt werden muß, die Zähl- und Meßbarkeit der Leistungen ist durch die *Fehlergröße* erfüllt. Die Fehlergröße ist hier die Anzahl der Millimeter, um die die aufgefundene Strecke in der Tabelle größer oder kleiner ist wie die Vergleichsstrecke. Um die Fehler beim Schätzen von kurzen und langen Strecken miteinander vergleichen zu können, sind sie in Prozent ausgedrückt, d. h. auf eine Einheitsstrecke von 100 mm bezogen. Als weitere Maße lassen sich verwenden *Fehlerstreuung* und *Fehlerrichtung*. Die Fehlerstreuung ist der Unterschied zwischen Minimal- und Maximalfehler der 6 Einzelversuche ohne Berücksichtigung des Vorzeichens. Mit Fehlerrichtung wurde die mittlere Fehlergröße der 6 Versuche bezeichnet unter Berücksichtigung der Vorzeichen. Die Fehlergröße erhielt ein + Vorzeichen, wenn die Vergleichsstrecke überschätzt wurde, ein — Vorzeichen, wenn es sich um Unterschätzung handelte. Wie die Versuche ergaben, ist bei weitem das wichtigste Maß die mittlere Fehlergröße ohne Angabe des Vorzeichens. Ihre alleinige Verwendung dürfte im praktischen Gebrauch genügen, da sie das eindeutigste Bild liefert von der Genauigkeit des Augenmaßes vor und nach der Arbeit. Die übrigen Maße können in weit höherem Grade von Zufallsresultaten beeinflußt werden. So ist einzusehen, daß die Fehlerrichtung weder in ihrem Vorzeichen noch ihrem Betrage einen Anhaltspunkt ergibt, wenn sich die positiven und negativen Fehler gegenseitig annähernd aufheben. Bei der Fehlerstreuung hat sich gezeigt, daß ein hoher Betrag nicht mit einem ebensolchen der Fehlergröße zusammenzutreffen braucht, da er durch ein einzelnes hohes Zufallsresultat bedingt sein kann, während die mittlere Fehlergröße das arithmetische Mittel aus 6 Versuchen darstellt. Die Messung, so genau sie uns auch einen Einblick in die Größenunterschiede gibt, bedeutet natürlich keinen erschöpfenden Ausdruck der psychischen Funktion selbst, die mehr durch Qualitäten als Quantitäten bestimmt ist. Die quantitative Auswertung der Methode ließ sich durch die Hilfsmittel der Statistik und graphischen Darstellung in hohem Maße verdeutlichen.

Die Prüfung des Augenmaßes durch das soeben beschriebene Verfahren wird damit meines Wissens zum erstenmal als Ermüdungsmessung angewandt. Von den Genauigkeitsprüfungen des Augenmaßes sind die Methoden



der Streckenhalbierung (*Catell* und *Pauli*), die jedoch noch nicht zur Messung und Untersuchung der Ermüdung verwandt wurden, in der experimentellen Psychologie bekannt geworden. Meine sogleich zu besprechenden Versuchsergebnisse werden den Beweis erbringen für die Eignung der Methode der Streckenvergleichung. Zur Klarstellung der Beziehungen zwischen Augenmaßprüfung und Ermüdung ist eine genaue Analyse unserer Methode notwendig. Zunächst, was versteht der Physiologe unter Augenmaß? Es ist die Fähigkeit, vermittels Augen- und Gehirnfunktion Größenunterschiede zu erkennen. Der kleinste Unterschied, der erkannt werden kann, wird bei parallelen Linien mit dem Streckenverhältnis von 100 : 101 angegeben. Beim Schätzen und Vergleichen von Strecken ist demnach ein Fehler von 1% als gutes Resultat zu bezeichnen, wie es sich häufig bei unserer Methode fand. Fehler unter 1% konnten gelegentlich als Zufallsergebnis vorkommen. Als durchschnittlicher Fehler ergab sich bei den 240 vorgenommenen Einzelversuchen für die kurzen Strecken (A) ein Betrag von 3,8%, für die langen Strecken (E) ein Betrag von 3%. Gegenstand des Versuchs sind, wie bei allen psychophysischen Methoden, die quantitativen Beziehungen zwischen Reizgröße und den zugehörigen subjektiven Vorgängen. Und zwar handelt es sich in unserem Falle um die Bestimmung zweier gleichwertig erscheinender Reize, wobei es hauptsächlich auf die Reizunterschiedsschwelle ankommt. Als Unterschiedsschwelle bezeichnet die Sinnesphysiologie den Wert einer Reizgröße, die zu einem gegebenen Reiz hinzukommen muß, damit ein deutlicher Empfindungsunterschied festgestellt werden kann, d. h. damit 2 Empfindungen als eben merklich verschieden erscheinen. Die Fehlergröße, die beim Vergleich von zwei Strecken gemacht wird, entspricht der Unterschiedsschwelle, d. h. sie stellt ihre untere Grenze dar. Sobald der Betrag diese Unterschiedsschwelle überstiege, würden die beiden Strecken nicht mehr für gleich gehalten. Wie bei allen Sinnesfunktionen läßt sich auch beim Augenmaß an den Messungen durch die Streckenvergleichung das *Weber*sche Gesetz nachweisen, was nicht wenig für die Genauigkeit der Methode sprechen dürfte. Das *Weber*sche Gesetz besagt, daß die Unterschiedsschwelle abhängig ist von der absoluten Größe der angewandten Reize, d. h. je größer der Reiz, desto größer der absolute Wert der Unterschiedsschwelle. In unseren Resultaten zeigt sich das *Weber*sche Gesetz insofern ausgeprägt, als bei den großen Strecken (E) auch die absoluten Beträge der Reizunterschiedsschwellen gewachsen sind, d. h. beim Vergleich der großen Strecken wurden absolut größere Fehler gemacht als bei den kurzen Strecken. Der Zuwachs des Fehlers geschieht annähernd proportional zur Reizgröße, wie die Fehlerprozentzahl von 3,8% für die kurzen und 3,0% für die langen Strecken beweist.



Nach der allgemeinen Einteilung der psychologischen Methoden handelt es sich in unserem Falle um *Fremdbeobachtung*, die im Gegensatz zur *Selbstbeobachtung* zur mittelbaren Form psychologischer Beobachtungen gehört. Weiterhin trennt die Psychophysik in *Herstellungs-* und *Konstanzverfahren* (Nomenklatur nach *Müller* und *Pauli*). Zu letzterem rechne ich unsere Versuche, da der veränderliche Reiz durch eine Reihe gleichmäßig abgestufter Größen ersetzt wird, wobei die einzelnen Stufen in beliebiger Reihenfolge dargebracht werden. Bei der Stellung der Aufgabe an die Versuchsperson war, wie es bei allen psychologischen Methoden nötig ist, auf sorgfältige Wahl des Wortlautes zu achten, um durch Suggestion bewirkte Versuchsfehler zu vermeiden. Es wurde das *unwissentliche Verfahren* angewandt, welches dem *wissentlichen* bei weitem vorzuziehen ist, d. h. es wurden jegliche theoretische und erklärende Erwägungen, soweit sie nicht zum Verständnis der Aufgabe selbst nötig waren, ausgeschaltet, um die Unvoreingenommenheit der Versuchsperson in keiner Weise zu stören. Durch Wiederholung des Einzelversuchs und mathematische Auswertung wird die Zuverlässigkeit der Beobachtung erhöht. Ein Hauptvorzug der Methode ist, daß sich die Versuchsbedingungen jederzeit herstellen lassen und die Möglichkeit der beliebigen Wiederholung mit beliebigen Personen geben, wodurch sie an Brauchbarkeit und Beweiskraft gewinnt. Aus den angeführten Untersuchungen ergibt sich, daß die Prüfung des Augenmaßes mit dem Verfahren der Streckenvergleichung allen Anforderungen genügt, die man an eine psychologische Methode stellen kann.

Um den *Einfluß der Ermüdung auf das Augenmaß* zu verstehen, müssen wir zunächst den komplizierten Vorgang, der bei der Größenwahrnehmung und Vergleichung stattfindet, zu erklären suchen. Es wird allgemein angenommen, daß das Augenmaß abhängig ist: 1. von der *extensiven Wahrnehmung*; 2. vom *Muskelgefühl* ausgehend von den äußeren Augenmuskeln. Es besteht sicherlich ein wesentlicher Unterschied des Wahrnehmungsvorgangs beim Abschätzen zwischen kurzen und langen Strecken. Bei den kurzen Strecken, die auf einmal im Auge abgebildet werden können, ist es die extensive Wahrnehmung, d. h. die Größenwahrnehmung entspricht der Anzahl der gereizten Nerveneinheiten. Für die langen Strecken nehme ich analog der allgemeinen psychophysischen Theorie von *Münsterberg* über die Ausbildung der Gehirnfunktionen durch motorische und Innervationsübung folgenden Vorgang an. Die Strecke wird mit Augenbewegungen verfolgt, und die aufgewandte Arbeit der äußeren Augenmuskeln vermittelt als Muskelgefühl eine Vorstellung der Länge. Es handelt sich dabei um eine geistige Arbeitsleistung mit einer motorischen Komponente.

Als *Versuchspersonen* konnten nur solche mit *normaler Refraktion* und ohne jede Störung des *binokularen Sehaktes*, der nur bei muskulärem



Gleichgewicht zustande kommt, verwandt werden. Denn alle Faktoren, die an und für sich schon eine Überanstrengung und Ermüdung der äußeren Augenmuskeln bewirken, mußten ausgeschaltet werden, um brauchbare Resultate zu erhalten. Fragen wir uns nun, zu welcher Arbeitsleistung die Funktion des Augenmaßes gehört, so müssen wir bei einer Einteilung in die *drei grundsätzlich verschiedenen Leistungen* von *geistiger*, *körperlicher* und *Koordinationsarbeit* es zur letzteren rechnen, da es weder eine reine Sinnesfunktion noch geistige Arbeit, noch motorische Leistung allein darstellt. Es handelt sich vielmehr um einen Komplex von Vorgängen, der aus Sinnesfunktion, geistiger Tätigkeit und komplizierten, nervösen Bahnungsmechanismen in motorischer Richtung mit feiner muskulärer Arbeit besteht und zur Koordinationsarbeit gerechnet werden muß. Bei unserer Methode der Streckenvergleichung kommen an psychischen Eigenschaften noch hinzu: Aufmerksamkeit, Konzentrationsfähigkeit, Gewissenhaftigkeit und Merkfähigkeit, die alle bei der Lösung der Aufgabe von großer Bedeutung sind. Es ist demnach zu erwarten, daß nach Koordinationsarbeit, bei der oben genannte Fähigkeiten besonders stark in Anspruch genommen werden, das Augenmaß als ebensolche Koordinationstätigkeit am stärksten herabgesetzt ist, was einzelne Versuchsergebnisse zu zeigen scheinen. Gegenüber dem Einwand, daß je nach der Art der Arbeit ganz verschiedene Teilgebiete eine Ermüdung erfahren, z. B. Aufmerksamkeit, Gedächtnis, Urteil, Muskulatur, ist darauf hinzuweisen, daß die Ermüdung erfahrungsgemäß keine Erscheinung ist, die nur an der sie verursachenden Leistung und dem jeweils beanspruchten Organ zum Ausdruck käme, sondern sich über den Gesamtorganismus und besonders das ganze Nervensystem erstreckt. Die Ermüdung läßt sich an dem Rückgang irgendwelcher Leistung erkennen, die an sich mit der geleisteten Arbeit nichts zu tun hat. So werden durch ermüdende geistige Tätigkeit auch die Muskeln und Sinnesleistungen herabgesetzt und umgekehrt. Hiermit stimmt die physiologische Auffassung der Ermüdung als eine Art Vergiftung des Gesamtorganismus durch Milchsäure und toxisch wirkende Stoffwechselprodukte überein.

Solche allgemein wirkenden Ermüdungsgifte sind aus dem Tierversuch bekannt. Danach ist es auch erklärlich, daß starke körperliche Arbeit, die über das Maß eines Ausgleiches einseitiger geistiger Betätigung hinausgeht, nach geistiger Arbeit keine Erholung darstellt, wie Ruhe und Schlaf. Denn durch die Muskelleistungen werden die Schlacken im Körper noch vermehrt. Auch durch psychologische Versuche, so von *Mosso* und seinen Schülern, wurde festgestellt, daß körperliche und geistige Ermüdungen in engster Wechselbeziehung zueinander stehen. Nach *Kraepelin* kann angestrengte rein geistige Tätigkeit die Muskelleistung herabsetzen und körperliche Arbeit läßt



auch auf geistigem Gebiet deutlich wahrnehmbare Ermüdung zurück. Für die Ermüdungsforschung der geistigen Arbeit haben die umfangreichen Versuche *Weygandts* gezeigt, daß die auf einem Teilgebiet erzeugte Ermüdung die gesamten geistigen Leistungen in Mitleidenschaft zieht und daß es nicht auf die psychologische Verwandtschaft, sondern auf den Ermüdungswert der Arbeit ankommt. Praktisch genügt demnach ein einheitliches Verfahren zur Ermüdungsmessung. Es ist also berechtigt, daß wir in unserem Falle die Methode der Augenmaßprüfung in allen Arbeitsgruppen zur vergleichenden Ermüdungsmessung angewandt haben, zumal es sich um einen Aufgabenkomplex handelt, der Aufmerksamkeit, Urteilskraft, Konzentrationsfähigkeit und Sinnesfunktion zugleich prüft.

Die von Herrn Prof. Dr. *Gotschlich* vorgeschlagene *Einteilung der menschlichen Arbeit* in 4 große Hauptkategorien, nämlich a) *körperliche* Arbeit, b) *geistige* Arbeit, c) *Koordinationsarbeit*, d) *gemischte Gruppe* körperlicher und geistiger Arbeit hat sich durch die Untersuchungen und ihre Ergebnisse in hohem Maße gerechtfertigt. Bisher wurden Ermüdungsmessungen nur innerhalb kleiner Gruppen vorgenommen, so besonders häufig an Schulkindern. Vergleichende Ermüdungsmessungen, die die Gesamtheit der Berufsgruppen erfassen wollen, sind bis jetzt nicht bekannt geworden. Die Einteilung der Arbeitsgruppen wurde in unseren Versuchen nach dem biologischen Gesichtspunkt der Organbeanspruchung vorgenommen, gegliedert in Muskeln, Nervensystem und Gehirnzellen. Zur körperlichen Arbeit (Gruppe A) wurde die Tätigkeit gerechnet, die vorwiegend durch die Muskulatur geleistet wird, und nur zum geringen Teil durch Gehirn- und Nervensystem, die ja bei jeder Arbeit, wenn auch in verschiedenem Maße beansprucht werden. Die Ermüdung geht in diesem Falle vorwiegend von der Muskulatur aus, wir können sie als grob muskuläre Ermüdung bezeichnen. Als Beispiele, die zu dieser Gruppe gehören, führe ich an: Bergarbeiter, Landleute, Tagelöhner, Maurer, Erdarbeiter, Bäcker, Brauer usw. Als Koordinationsarbeit (Gruppe C) wurde diejenige Tätigkeit bezeichnet, bei der es sich um die Zusammenarbeit feinerer Muskelfunktionen handelt mit starker Beanspruchung der Sinnesorgane, des Nervensystems und der Gehirnzellen infolge großer Aufmerksamkeitsanspannung und komplizierter und häufiger Bahnungsmechanismen. Wenn noch rein intellektuelle Arbeit hinzukommt, muß die Ermüdung in dieser Gruppe besonders groß sein. Um Ermüdung der feineren motorischen Koordination handelt es sich bei Mechanikern, Optikern, Stenotypistinnen, Uhrmachern, Drechslern, Telegraphistinnen und ähnlichen Berufen. Als rein geistige Arbeit galt die Tätigkeit, die nur innerhalb der Gehirnzellen und Bahnen auf dem Gebiet des Urteils und des Gedächtnisses abläuft. Zur Gruppe der intellektuellen Ermüdung (Gruppe B) gehören



Lehrer, Studenten, Staatsbeamte und kaufmännische Beamte. Berufe mit Aufgaben, die neben muskulärer Arbeit intellektuelle Leistungen erfordern, wurden zu einer gemischten Gruppe (D) von körperlicher und geistiger Arbeit gezählt. Hierhin gehört vor allem ein großer Teil der weiblichen Berufe, wie Hausfrau, Krankenpflegerin, ferner der Landwirt und viele öffentliche und Privatangestellte in unterer Stellung, z. B. Schutzleute, Aufseher, Boten usw. In diesem Zusammenhange möchte ich darauf hinweisen, daß eine ähnliche Arbeit über Ermüdungsmessungen, die auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. *Gotschlich* an denselben Versuchspersonen vorgenommen wurden, der meinigen parallel läuft.

Zur Beurteilung der Versuchsergebnisse ist eine genaue Kenntnis der *Fehlerquellen* nötig, die bei allen psychologischen Methoden eine große Rolle spielen. Wie schon klargelegt wurde, kann es sich bei der Augenmaßprüfung durch Streckenvergleichung nicht um Messungen der reinen Sinnesfunktion handeln, sondern es kommen hinzu Konzentrationsfähigkeit, Aufmerksamkeit und Merkfähigkeit, psychische Funktionen, die durch Ermüdung besonders beeinträchtigt werden. Es handelt sich aber bei der vorliegenden Methode keinesfalls nur um eine Aufmerksamkeitsprüfung, sondern den wesentlichen Bestandteil der Aufgabe stellt die komplizierte Funktion des Augenmaßes selbst dar, das wir in der überwiegenden Mehrzahl unserer Versuchsfälle nach Ermüdung herabgesetzt finden. Die Abhängigkeit des Augenmaßes vom körperlichen Allgemeinzustand war selten Gegenstand eingehender Untersuchungen. In der psychologischen Literatur findet sich nur bei *Münsterberg* der Einfluß des Alkohols auf das Augenmaß erwähnt, der eine deutliche Abnahme bewirken soll. Zahlenmäßige Angaben über den Grad der Abnahme sind jedoch nicht angegeben. Die Wirkungen des Alkohols und der Ermüdung haben, wenn wir beide als Toxineinwirkung ansehen, weitgehende Ähnlichkeit miteinander, so daß die gleichartigen Untersuchungsergebnisse als gegenseitige Bestätigung angenommen werden können. Eine Fehlerquelle, die unbedingt vermieden werden muß durch stets gleichmäßige Gestaltung der Versuche, sind optische Täuschungen, die sehr leicht bei mangelhaften Tabellen zustande kommen können. So werden nicht parallele Strecken und Strecken von ungleichmäßiger Stärke der Linie falsch geschätzt. Schließlich hängen die Versuchsresultate ab von Begabung und Bildungsgrad der Person, sowie von ihren fachlichen Kenntnissen. Die vorliegenden Messungen zeigen insbesondere die stark unterschiedliche Genauigkeit des Augenmaßes infolge Veranlagung und beruflicher Übung. In Anbetracht der verschiedenen individuellen Fehler ist die *Fehlergröße an und für sich* sicherlich kein eindeutiges Merkmal im Sinne einer vergleichbaren einheitlichen Leistung. Die *Differenz der Fehlergrößen*



vor und nach der Arbeit ist jedoch *als Maßstab der Ermüdung sehr gut brauchbar*, da wir bei derselben Person in jedem Versuchsfall mit denselben individuellen Eigenschaften bzw. Fehlern zu rechnen haben. Weitere Schwierigkeiten, die einer exakten Messung entgegenstehen, sind durch die Erscheinung der Ermüdung selbst gegeben. *Kraepelin* hat sie durch seine Additionsmethode näher aufgedeckt. Es sind die 3 Faktoren der *Anregung* nach geistiger Arbeit, der psychomotorischen *Erregung* nach Tätigkeit mit lebhaften Bewegungsantrieben und der *Hemmungen*. Hierdurch kann die wahre Ermüdung verdeckt oder beeinträchtigt werden, was viele abweichende Versuchsergebnisse ungezwungen erklärt. Wenn wir die seither bei den zahlreich ausgeführten Ermüdungsmessungen gewonnenen Resultate ins Auge fassen, die sich vielfach widersprechen und kaum eindeutige Ergebnisse aufzuweisen haben, so sind in Anbetracht der anerkannten Schwierigkeit und Kompliziertheit des Problems bei unserer Ermüdungsmessung durch Augenmaßprüfung die Resultate verhältnismäßig klar und lassen weitgehende Schlüsse zu.

Die Zusammenstellung der Tabellen und graphischen Darstellungen ist so gewählt, daß die Ergebnisse unserer Versuche gut veranschaulicht werden. In die Tab. I—IV wurden alle Resultate in je einer besonderen Tabelle für die einzelnen Arbeitsgruppen mit Ausnahme der Vorversuche protokollarisch aufgenommen. Spalte 1 dieser 4 Tabellen enthält die Fehler in Prozent nach mittlerer Fehlergröße, Fehlerstreuung und Fehlerrichtung beim Abschätzen der Strecken *vor* der Arbeit, Spalte 2 die Fehlerprozente beim Abschätzen von Strecken *nach* der Arbeit. Spalte 3 bringt einen prozentualen Vergleich von Fehlergröße und Fehlerstreuung vor und nach der Arbeit in Form der Differenz. Bei schlechterem Resultat nach der Arbeit ergab sich ein positiver Betrag (Prozentzahl), bei geringerem Schätzungsfehler nach der Arbeit eine negative Prozentzahl. Wie Tab. V zeigt, haben von 40 Versuchspersonen aller 4 Arbeitsgruppen zusammen bei den kurzen Strecken 13 (33%) ein besseres Resultat, 27 (67%) ein schlechteres Resultat *nach* der Arbeit. Bei den langen Strecken sind die Zahlen ungefähr die gleichen, 15 Versuchspersonen (38%) weisen nach der Arbeit eine geringe Fehlergröße auf, 25 (62%) nach der Arbeit ein schlechteres Resultat. Daraus ergibt sich, daß in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle mit einer *Herabsetzung des Augenmaßes durch ermüdende Arbeit* gerechnet werden kann und der Grad der Herabsetzung in Beziehung steht zum Grad der Ermüdung. In welch charakteristischer Weise sich die besseren Resultate nach der Arbeit auf die einzelnen Gruppen verteilen, werde ich weiter unten noch zeigen können. Die großen wie die kleinen Strecken erwiesen sich in gleicher Weise zur Ermüdungsmessung verwendbar. Mit den kurzen Strecken A ließ sich bei 67% der Versuchs-



Tabelle I. A. Körperliche Arbeit.

Name, Beruf, Alter der Versuchsperson	I. Fehler beim Abschätzen von Strecken *vor der Arbeit*						II. Fehler beim Abschätzen von Strecken *nach der Arbeit*						III. Differenz			
	A. Kurze Strecken			E. Lange Strecken			A. Kurze Strecken			E. Lange Strecken			A. Kurze Strecken		B. Lange Strecken	
	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	A. Fehlergröße in %	Fehlerstreuung in %	E. Fehlergröße in %	Fehlerstreuung in %
B., Fabrikarb., 21 J.	2) 1,3	2,0	+0,6	1,0	1,0	-0,7	1) 4,2	9,1	-4,2	5,8	5,9	-5,8	2,9 = 223	7,1 = 305	4,8 = 480	4,9 = 490
	3) 4,7	10,0	-4,7	2,5	8,5	-1,8	4) 3,7	8,0	-3,7	3,3	5,5	-3,2	-1,0 = -21	-2,0 = -20	0,8 = 32	-3,0 = -35
P. Z., Bergarb., 34 J.	2) 1,8	2,2	-0,7	1,7	3,1	+1,7	1) 1,3	2,2	-0,7	3,5	3,5	+3,0	-0,5 = -28	0 = 0	1,8 = 109	0,4 = 13
	4) 2,7	6,0	-0,7	1,3	5,5	-0,8	3) 4,3	8,0	-3,7	3,3	6,0	+2,6	1,6 = 59	2,0 = 33	2,0 = 154	0,5 = 9
W.Sch., Bergarb., 23 J.	2) 3,7	10,0	+1,3	3,3	7,5	+3,3	1) 3,1	8,9	+0,8	1,9	3,9	+0,6	-0,6 = -16	-1,1 = -11	-1,4 = -33	-3,6 = -48
Fr.W., Bergarb., 26 J.	2) 3,1	6,0	+3,1	2,7	3,9	+2,7	1) 3,9	8,9	-3,0	4,0	4,5	+4,0	0,8 = 26	2,9 = 48	1,3 = 48	0,6 = 15
W., Bergarbeit., 26 J.	2) 2,4	6,7	+1,2	2,1	3,6	+1,3	1) 2,8	6,0	+2,8	2,4	3,4	-0,7	0,4 = 17	-0,7 = 10	0,3 = 14	-0,2 = 6
P. C., Bergarb., 33 J.	2) 2,3	10,0	+2,3	2,7	3,5	-2,3	1) 5,0	10,0	+1,7	2,6	4,5	+0,4	2,7 = 117	0 = 0	-0,1 = -4	1,0 = 29
H. V., Bergarb. 35 J.	2) 8,7	10,0	-8,7	2,2	5,5	-2,2	1) 9,3	6,0	-9,3	4,4	3,5	-4,4	0,6 = 7	-4,0 = -40	2,2 = 100	-2,0 = -36
K. F., Bergarb., 16 J.	2) 4,7	8,0	-4,0	3,8	6,5	+2,0	1) 3,0	6,0	+1,0	2,8	7,0	+2,2	-1,7 = -36	-2,0 = 25	-1,0 = -26	0,5 = 8
G. W., Bergarb., 48 J.	2) 6,0	12,0	-5,0	3,2	3,5	+2,7	1) 6,0	10,0	-6,0	3,6	4,0	-3,0	0 = 0	-2,0 = -17	0,4 = 18	0,5 = 14
W., Schlosser, 22 J.	2) 1,7	2,2	-0,3	3,4	4,6	+3,2	1) 2,7	8,0	-2,1	3,2	3,5	+3,2	1,0 = 59	5,8 = 264	-0,2 = -6	-0,9 = -17
	3) 2,0	3,6	-0,7	2,5	3,9	+2,5	1) 2,7	8,0	-2,1	3,2	3,5	+3,2	0,7 = 35	4,4 = 122	0,7 = 28	-0,4 = -10
Tabelle II. B. Geistige Arbeit.																
Gr., Hdlgs.-Geh., 19 J.	2) 1,7	2,2	+0,5	1,6	2,5	-1,2	1) 2,4	4,4	-2,4	2,6	2,8	-1,9	0,7 = 41	2,2 = 100	1,0 = 63	0,3 = 12
	3) 3,0	6,0	-3,0	3,7	4,5	+2,8	4) 3,7	2,0	-3,0	4,4	7,5	+3,3	0,7 = 23	-4,0 = -66	0,7 = 19	3,0 = 66
D., cand. agr., 23 J.	1) 3,0	8,0	-3,0	5,3	7,5	-5,8	2) 3,7	6,0	-2,3	4,3	6,5	-2,7	0,7 = 23	-2,0 = -25	-1,0 = -19	-1,0 = -13
	3) 4,3	6,0	-2,3	2,8	4,0	-0,8	4) 2,0	4,0	+1,3	2,8	2,0	-1,9	-2,3 = -53	-2,0 = -33	0 = 0	-2,0 = -50
K.B., Postassist., 42 J.	1) 6,3	10,0	-6,3	5,0	6,0	+5,0	2) 5,0	6,0	-5,0	4,3	6,0	+4,3	-1,3 = -21	-4,0 = -40	-0,7 = -14	0 = 0
	3) 9,7	4,0	-9,7	4,8	8,5	-4,4	2) 5,0	6,0	-5,0	4,3	6,0	+4,3	-4,7 = -48	2,0 = 33	-0,5 = -10	-2,5 = 39
W. B., Postsekr., 37 J.	2) 4,3	12,0	+8,0	1,0	1,0	-0,2	1) 2,7	2,0	+0,7	3,1	8,5	+0,1	-1,6 = -87	-1,0 = -83	2,1 = 210	7,5 = 750
	3) 1,0	2,0	+1,0	.	.	.	1) 2,7	2,0	+0,7	.	.	.	1,7 = 170	0 = 0	.	.
E. B., Telegraph. . .	2) 5,3	6,0	+3,3	2,7	5,0	+2,1	1) 1,3	2,0	+0,7	3,2	4,5	+2,9	-4,0 = -75	-4,0 = -66	0,5 = 19	-0,5 = -10
	.	.	.	.	.	.	3) 2,3	6,0	+1,7	4,8	6,5	+4,8	-3,0 = -57	0 = 0	2,1 = 78	1,5 = 30
W. E., cand. phil., 25 J.	1) 5,7	6,0	-5,7	0,8	2,0	-0,5	2) 4,7	4,0	-4,7	2,3	7,0	+2,3	-1,0 = -18	-2,0 = -33	1,5 = 183	5,0 = 250
A.St., cand. med., 25 J.	1) 1,9	6,0	-1,9	2,6	4,6	+1,8	2) 2,4	4,4	-2,4	3,2	7,5	+3,2	0,5 = 26	-1,6 = -27	0,6 = 23	2,9 = 63
L. A., Pharmaz., 20 J.	1) 1,3	2,0	+0,7	1,9	4,0	+0,7	2) 1,0	2,0	-0,3	4,1	7,0	+3,3	-0,3 = -23	0 = 0	2,2 = 116	3,0 = 75
H. A., Kaufm., 50 J.	1) 5,5	13,0	-4,8	3,7	6,0	+8,7	2) 6,3	16,0	-6,3	5,4	7,5	+5,4	0,8 = 175	3,0 = 23	1,7 = 46	1,5 = 25
H.A., cand. med., 23 J.	2) 2,9	5,5	-2,9	2,0	1,5	+0,3	8,0	4,2	+1,6	3,6	3,5	+1,1	0,1 = 4	-1,3 = -24	1,6 = 80	2,0 = 133

personen, mit den langen Strecken E bei 62% Ermüdung nachweisen (s. Tab. V). Dagegen ist der *Betrag des Ermüdungsfehlers,* wie Tab. VI zeigt, bei den langen Strecken im Durchschnitt größer als bei den kurzen Strecken, was sich dadurch erklären läßt, daß beim Schätzen der langen Strecken 2 Momente, nämlich die extensive Wahrnehmung und außerdem ganz besonders der Muskelsinn, in Anspruch genommen werden.

Bei einem allgemeinen Überblick über die in den Tabellen zusammengestellten Versuche fällt auch innerhalb einer Gruppe die Ungleichheit der absoluten Fehlergrößen wie ihrer Differenzen auf. Ersteres spricht für eine sehr verschiedene Ausbildung des Augenmaßes, je nach den einzelnen Berufen; letzteres zeigt, daß die Ermüdbarkeit, je nach der Körperkonstitution eine sehr verschiedene sein kann. Auch die bei ein und derselben Person wiederholt vorgenommenen Versuche weisen Schwankungen auf, was durch die an einzelnen Tagen wechselnden körperlichen Zustände erklärlich ist. Der Betrag der Fehlerstreuung läuft nicht parallel dem der Fehlergröße, da er, wie schon gezeigt wurde, durch ein einziges Zufallsresultat innerhalb der 6 Versuche bedingt sein kann. Wenn auch eine große Fehlerstreuung häufig mit einem großen Ermüdungsfehler zusammentrifft, so lassen sich sichere Schlüsse doch nur aus der Fehlergröße ziehen. In der überwiegenden Mehrzahl stimmt der Betrag des Ermüdungsfehlers in Prozent bei kurzen und langen Strecken annähernd überein; doch treten auch hier einzelne gegensätzliche Resultate auf, wie es bei den bekannten Fehlerquellen, die allen psychologischen Methoden anhaften, nicht anders erwartet werden kann. Welche Schwankungen bei der Differenz der Fehlergröße vor und nach der Arbeit möglich sind, zeigt, daß sie in einem Falle über 225% betrug und in 2 Fällen etwa 200%, in 2 weiteren 175%, während die Fehlergröße nach der Arbeit, in 2 Fällen um 75%, in 5 Fällen um 50% besser war. Im Mittel betrug die Verschlechterung des Resultats nach der Arbeit 50—75%. Durch die Einteilung in die 4 Berufsgruppen: A körperliche Arbeit, B geistige Arbeit, C Koordinationsarbeit, D körperliche und geistige Arbeit ließen sich jedoch für die einzelnen Gruppen ganz besonders charakteristische Merkmale nachweisen. Die Endergebnisse der Ermüdungsmessungen wurden in den Tab. V und VI zusammengestellt und lassen bestimmte Gesetzmäßigkeiten erkennen. In Tab. V ist für alle Gruppen eine Übersicht gegeben über die Verteilung der Personenzahl zu dem Betrag des prozentualen Ermüdungsfehlers. Links vom Koordinatenanfangspunkt ist die Personenzahl aufgetragen, die ein besseres Schätzungsvermögen nach der Arbeit aufwies, rechts ist die Anzahl der Personen eingeordnet, deren Augenmaß sich nach der Arbeit um so und so viel Prozent verschlechterte. Zunächst sehen wir, daß eine Verbesserung der Resultate nach der Arbeit nur bis zu dem Betrag von 75% vorkam, während die Verschlechterung der Resultate



Tabelle III. C. Koordinationsarbeit.

Name, Beruf, Alter der Versuchsperson	I. Fehler beim Abschätzen von Strecken *vor der Arbeit*						II. Fehler beim Abschätzen von Strecken *nach der Arbeit*						III. Differenz			
	A. Kurze Strecken			E. Lange Strecken			A. Kurze Strecken			E. Lange Strecken			A. Kurze Strecken		B. Lange Strecken	
	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	F.-Gr.	F.-Str.	F.-R.	A. Fehlergröße in %	Fehlerstreuung in %	E. Fehlergröße in %	Fehlerstreuung in %
T., Goldarbeit., 36 J.	1) 2,4	5,5	-0,1	0,8	2,5	+0,3	2) 1,0	2,2	-0,8	1,5	3,5	+1,5	-1,4 = -58	-3,3 = -38	0,7 = 88	-2,0 = -40
	.	.	.	.	.	.	3) 4,4	8,9	-3,6	2,3	4,1	-0,6	2,0 = 83	3,4 = 62	1,5 = 188	1,6 = 64
B., Schreibmaschin.-	2) 1,8	4,4	+0,4	0,7	1,5	+0,5	1) 4,3	10,9	+3,7	1,8	3,9	+0,3	2,5 = 139	6,5 = 148	1,1 = 157	2,4 = 160
Fräulein, 26 J.	3) 6,3	16,0	+5,0	4,1	6,0	-0,8	4) 8,7	14,0	-7,3	3,6	6,0	+0,3	2,4 = 38	-2,0 = -13	-0,5 = -12	0 = 0
St., Schuhm.-Mstr.	1) 2,7	6,7	-0,9	1,3	3,5	+1,2	2) 3,1	6,0	+1,6	2,2	3,4	+0,9	0,4 = 15	-0,7 = -10	0,9 = 69	0,1 = -3
R., Elfenbeinschnitz. (Lehrling), 21 J.	2) 4,3	8,0	-4,3	1,8	5,0	+1,6	1) 6,3	10,0	-6,3	2,7	4,5	+1,5	2,0 = 47	2,0 = 25	0,9 + 50	-0,5 = -10
N., Elfenbeinschnitz., 41 J.	1) 2,3	6,0	+1,3	3,6	1,5	+1,4	2) 1,7	4,0	-1,0	1,4	2,5	+0,4	-0,6 = -26	-2,0 = -33	-2,2 = -61	1,0 = 66
L., Uhrmacherlehrl., 15 J.	1) 4,0	8,0	-3,3	2,3	7,0	-0,3	2) 7,3	8,0	-6,0	4,4	7,0	-2,7	3,3 = 82	0 = 0	2,1 = 91	0 = 0
B., Optiker, Mechaniker, 18 J.	2) 3,7	10,0	-3,0	3,0	3,0	-0,3	1) 5,3	8,0	+0,7	4,7	9,5	-4,1	1,6 = 43	-2,0 = -20	1,7 = 57	6,5 = 217
M. W., Sortiererin in Zigarrenfabr., 26 J.	1) 2,7	2,0	-1,7	3,8	3,5	+3,0	2,7	6,0	-2,7	4,0	6,0	+4,0	0 = 0	4,0 = 200	0,2 = 5	2,5 = 71
A. W., Sortiererin in Zigarrenfabr., 22 J.	1) 1,7	4,0	+1,0	3,7	5,0	+1,0	2) 2,0	6,0	0	3,2	7,5	2,7	0,3 = 18	2,0 = 50	-0,5 = -13	2,5 = 50
J. W., Schuhmachermeister, 34 J.	1) 8,7	10,0	-3,3	3,9	9,5	+3,8	5,7	10,0	+1,0	3,8	5,0	-1,3	-3,0 = -34	0 = 0	-0,1 = -3	-4,5 = -47

Tabelle IV. D. Körperliche und geistige Arbeit.

Name, Beruf, Alter der Versuchsperson	I. A. F.-Gr.	I. A. F.-Str.	I. A. F.-R.	I. E. F.-Gr.	I. E. F.-Str.	I. E. F.-R.	II. A. F.-Gr.	II. A. F.-Str.	II. A. F.-R.	II. E. F.-Gr.	II. E. F.-Str.	II. E. F.-R.	III. A. Fehlergröße in %	III. A. Fehlerstreuung in %	III. B. Fehlergröße in %	III. B. Fehlerstreuung in %
H., Krankenschwest., 30 J.	**1) 4,0**	**8,0**	**-2,7**	**2,3**	**7,5**	**+2,3**	**2) 4,0**	**4,0**	**-4,0**	**1,3**	**3,0**	**-0,3**	**0 = 0**	**-4,0 = -50**	**-1,0 = -43**	**-4,5 = -60**
I. F., Krankenschw., 23 J.	**1) 5,7**	**8,0**	**+1,0**	**4,2**	**9,5**	**+3,5**	**2) 2,3**	**4,0**	**-2,3**	**2,2**	**3,0**	**+2,2**	**-3,4 = 60**	**-4,0 = -50**	**-2,0 = -48**	**-6,0 = -63**
M. St., Krankenschw. 25 J.	**1) 4,3**	**6,0**	**+3,7**	**4,3**	**6,0**	**+4,3**	**2) 1,3**	**4.0**	**+0,5**	**4,0**	**6,0**	**+1,8**	**-3,0 = 69**	**-2,0 = -33**	**-0,3 = -7**	**0 = 0**
E. W., Krankenschw., 40 J.	**1) 3,3**	**8,0**	**+3,3**	**5,4**	**9,0**	**+5,3**	**2) 4,0**	**10,0**	**+3,3**	**4,9**	**5,0**	**+4,9**	**0,7 = 21**	**2,0 > 25**	**-0,5 = -10**	**-4,0 = 44**
A., Krankenschwest., 25 J.	**1) 5,3**	**12,0**	**-1,2**	**3,2**	**8,5**	**-0,5**	**4,7**	**8,0**	**-4,7**	**1,6**	**2,5**	**+0,2**	**-0,6 = -11**	**-40 = 33**	**-1,6 = -50**	**-6,0 = -70**
E. H., Krankenschw., 29 J.	**1) 5,8**	**10,0**	**-5,3**	**2,1**	**3,5**	**+0,6**	**2) 6,0**	**6,0**	**-2,3**	**1,8**	**3,0**	**+1,2**	**0,7 = 13**	**-4,0 = -40**	**-0,3 = -14**	**-0,5 = -14**
R. A., Hausfrau, 50 J.	**1) 2,2**	**5,5**	**+0,8**	**4,3**	**5,1**	**+4,3**	**2) 2,2**	**6,7**	**-2,2**	**2,0**	**2,9**	**-1,7**	**0 = 0**	**1,2 = 22**	**-2,3 = -53**	**-3,8 = -64**
E. W., Hausfrau, 33 J.	**2) 4,7**	**8,0**	**-2,7**	**2,0**	**1,5**	**+0,8**	**1) 5,3**	**8,0**	**-5,3**	**3,4**	**5,0**	**+1,8**	**0,6 = 13**	**0 = 0**	**1,4 = 70**	**3,5 = 233**
M. L., Hausarb., 18 J.	**1) 1,7**	**4,0**	**-1,0**	**3,3**	**3,5**	**+3,3**	**2) 4,0**	**4,0**	**-4,0**	**3,7**	**6,7**	**+3,7**	**2,3 = 135**	**0 = 0**	**0,4 = 12**	**3,2 = 91**
D., Hausfrau	**1) 3,5**	**6,0**	**+1,5**	**1,2**	**3,4**	**-1,0**	**2) 3,2**	**8,9**	**+3,2**	**1,7**	**0,8**	**-0,8**	**-0,3 = 90**	**2,9 = 48**	**0,5 = 42**	**-1,9 = -56**

durch Ermüdung den hohen Betrag von 225% erreichte. Außerdem ergibt sich, daß von den 10 Versuchspersonen in jeder Gruppe 7—8 ein schlechteres Resultat nach der Arbeit zeigen und nur 2—3 Personen eine Verbesserung. Wenn man die Versuchspersonen aller Gruppen zusammenrechnet, so haben 35% ein besseres Resultat nach der Arbeit, 65% eine Verschlechterung des Augenmaßes nach der Arbeit. Daß nach der Arbeit unter Umständen bessere Resultate erzielt werden als morgens vor derselben, läßt sich einerseits durch einen anregenden Einfluß der Arbeit erklären, aber ganz besonders dadurch, daß *verschiedene Arbeitstypen*, die wir als *Morgen-* und *Abendarbeiter* bezeichnen, existieren. Nach den Angaben von *W. J. Ruttmann*, „Begabung und Arbeitsleistung", kommt der Typ des Abendarbeiters, d. h. der abends seine größte Frische und Leistungsfähigkeit hat, besonders häufig bei den geistigen Berufen und solchen mit starker Nervenanspannung vor. Ins Pathologische gesteigert ist die morgendliche Ermüdung ein wohlbekanntes Symptom der Neurasthenie, die wir direkt als Ermüdungskrankheit bezeichnen können. *Ruttmann* ist in seiner Untersuchung über die Periodik der Arbeit der Ansicht, daß der gegensätzliche Typus des Morgen- und Abendarbeiters abhängig ist von verschiedenen Schlaftypen, die auf der wechselnden Periodizität des Stoffwechsels infolge von Anlage und Gewöhnung beruhen. In unseren Versuchen wird der Typ des Abendarbeiters mit großer Deutlichkeit aufgedeckt. In der Gruppe der geistigen Arbeit zeigen beim Abschätzen von kurzen Strecken 50% nach der Arbeit das bessere Resultat, in der gemischten Gruppe (D) von körperlicher und geistiger Arbeit 40% für kurze Strecken, für lange Strecken sogar 70%, während in den übrigen Gruppen nur 20—30% dieses Verhalten aufweisen. Die Gruppe D, in der Versuchspersonen zusammengestellt sind, die gleichzeitig körperliche und geistige Arbeit leisten und infolgedessen besonders angestrengt sein mögen, bestand, wie ein Blick auf die Tab. IV. zeigt, lediglich aus weiblichen Versuchspersonen, nämlich aus Krankenschwestern und Hausfrauen. Bekanntlich hat die vielseitige und aufreibende Tätigkeit beider Berufe, die in anstrengender körperlicher wie intellektueller Arbeit besteht, eine besonders große Nervenbeanspruchung zur Folge, und die Zahl der Fälle von nervöser Erschöpfung ist eine sehr hohe aus diesen Gruppen. Es mag dabei auch noch die besondere Reaktionsart der empfindlicheren weiblichen Konstitution eine Rolle spielen. Eine weitere Überlastung der Frau, jedenfalls ohne die notwendige Fürsorge für ihre körperliche Ertüchtigung und Erhaltung ihrer Lebenskraft, wird ernste Folgen für unser Volksleben haben. Es erscheint uns demnach verständlich, daß eine Gruppe mit starker Beanspruchung des Nervensystems dasselbe Verhalten in bezug auf Ermüdungserscheinungen zeigt, wie es von den geistigen Arbeitern bekannt ist. Auch

Tabelle V.

Zahl der zugehörigen Personen: Arbeitsgruppe		Summe der Personen ohne Ermüdungsfehler	Zahl der Fehlergröße in %: 75 –	50 –	− 25 –	0 –	+ 25 ·	50 –	75 –	100 –	125 –	150 –	175 –	200 –	225 –	Summe der Personen mit Ermüdungsfehler
A. Körperliche Arbeit . .	A.	2 (20%)		1	1	3	2	1	·	1	·	·	·	1	·	8 (80%)
	E.	3 (30%)		2	1	2	2	·	1	·	·	1	·	·	1	7 (70%)
B. Geistige Arbeit . . .	A.	5!(50%)	1	1	3	3	2	·	·	·	·	·	·	·	·	5 (50%)
	E.	2 (20%)			2	2	1	1	1	1	·	·	·	1	·	8 (80%)
C. Koordinationsarbeit . .	A.	2 (20%)		2		3	2	·	2	1	·	·	·	·	·	8 (80%)
	E.	3 (30%)	1		2	1	1	2	1	·	·	1	1	·	·	7 (70%)
D. Gemischte Gruppe körperlich. u. geistig. Arbeit	A.	4 (40%)	1		3	5	·	·	·	·	1	·	·	·	·	6 (60%)
	E.	7!(70%)	1	3	3	1	1	1	·	·	·	·	·	·	·	3 (30%)
Summe für A.		13 (33%)	2	4	7	14	6	2	2	1	2	·	·	1	·	27 (67%)
Summe für E.		15 (38%)	2	5	8	6	5	4	3	1	·	2	2	1	1	25 (62%)
Summe für A+E.		28 (35%)	4	9	15	20	11	5	5	2	2	2	2	2	1	52 (65%)

Tabelle VI.

Arbeitsgruppe		Mittlere Fehlergröße: vor der Arbeit	Mittlere Fehlergröße: nach der Arbeit	Differenz	Differenz in %	Mittlere Fehlerstreuung: vor der Arbeit	Mittlere Fehlerstreuung: nach der Arbeit	Differenz	Differenz in %
A. Körperliche Arbeit	A.	3,5	4,1	0,6	17	6,8	7,6	0,8	12
	E.	2,5	3,4	0,9	36	4,7	4,2	−0,5	−10
B. Geistige Arbeit	A.	4,0	3,1	−0,9	−23	6,3	4,8	−1,5	−24
	E.	2,8	3,7	0,9	32	4,4	5,9	1,5	34
C. Koordinationsarbeit	A.	3,6	4,4	0,8	22	7,3	5,3	−2,0	−27
	E.	2,6	3,0	0,4	15	4,6	5,2	0,6	13
D. Gemischte Gruppe körperlicher und geistiger Arbeit	A.	4,0	3,7	−0,3	−8	7,6	6,4	−1,2	−16
	E.	3,2	2,7	−0,5	−16	5,8	3,9	1,0	−33
Mittlere Fehler aller 4 Gruppen .	A.	3,8	3,8	0	0	7,0	6,0	−1,0	−14
	E.	2,8	3,2	0,4	14	4,8	4,8	0	0

gaben die Versuchspersonen übereinstimmend an, daß sie sich abends subjektiv frischer fühlten als morgens vor der Arbeit. Vielleicht kommt bei den angestellten Versuchen noch der rein psychische Umstand hinzu, daß es namentlich für eine Frau schwierig ist, sich morgens vor der drängenden Tagesarbeit auf eine ungewohnte und auch ihren Betrieb störende Aufgabe zu konzentrieren, wofür sie am Abend nach Erledigung ihrer Pflichten mehr Ruhe und Aufmerksamkeit aufwenden kann. Die Frauen, die ich in der Gruppe der geistigen und Koordinationsarbeit zu untersuchen Gelegenheit hatte, lassen kein vom männlichen Arbeiter wesentlich abweichendes Verhalten erkennen. Die Ergebnisse bei Prüfung der geistigen Arbeiter und der gemischten Gruppen dürften einen nicht geringen Beweis für die Brauchbarkeit der Methode bilden. Die Gruppe der körperlichen Arbeiter, die sich vorwiegend aus Bergleuten zusammensetzt, zeigt von allen die gleichmäßigsten Resultate und den größten durchschnittlichen Ermüdungsfehler, 17% für die kurzen Strecken (A) und 36% für die langen Strecken (E). Subjektiv wurde in den meisten dieser Fälle deutliche Ermüdung nach der Arbeit geäußert, während am frühen Morgen vor der Arbeit niemals über irgendwelche Ermüdungserscheinungen, wie in den beiden letztbehandelten Gruppen, geklagt wurde. Beim körperlich Arbeitenden liegen die Verhältnisse insofern gesundheitlich günstig, als auf die deutliche Ermüdung eine völlige Erholung folgt.

Auch bei der Koordinationsarbeit (Gruppe C) finden wir nach der Arbeit eine wesentliche Herabsetzung des Augenmaßes um 22% für die kurzen, um 15% für die langen Strecken. Der Unterschied wäre vielleicht noch größer, wenn nicht gerade bei Berufen wie Optikern, Goldarbeitern und Graveuren, die zu dieser Gruppe gehören, das Augenmaß durch die Berufstätigkeit besonders geübt wäre. Tatsächlich wurde hier auch der kleinste absolute Betrag der Fehlergrößen gefunden. Wichtig erschien mir ein Vergleich zwischen subjektivem Ermüdungsgefühl und dem objektiven Ermüdungsfehler, der in Tab. VII erfolgte, soweit ich bestimmte subjektive Angaben über den Ermüdungszustand erhalten konnte. Es zeigt sich in allen Gruppen eine gute Übereinstimmung zwischen den Angaben und dem objektiven Befund, wie ich schon oben im einzelnen ausführen konnte. Hierzu möchte ich bemerken, daß die Leute ihren Befund nicht kennen konnten, da ich mich jeder Mitteilung über Resultate enthielt und diese selbst erst nachträglich zusammenstellte, so daß die Versuchspersonen vollkommen frei von suggestiver Beeinflussung waren.

Um die wichtigsten Ergebnisse deutlicher zur Anschauung zu bringen, habe ich im Anschluß an die zusammenfassende Tab. V eine Reihe von graphischen Darstellungen (A, B u. C) gewählt, die die Verteilung der Personenzahl auf die Größe des Ermüdungsfehlers zeigen. Auf der



Tabelle VII.

Name und Beruf	Subjektive Angaben über Ermüdung	Verschlechterung, bzw. Verbesserung des Resultates nach der Arbeit in %			
		Kurze Strecken		Lange Strecken	
		Fehler-Größe	Fehler-Streuung	Fehler-Größe	Fehler-Streuung
	A. Körperliche Arbeit.				
B., Fabrikarbeiter	Nach der Arbeit subj. ermüdet .	223	305	480	490
Z., Bergarbeiter	Nach der Arbeit subj. ermüdet .	59	33	154	9
F., "	Keine Angab. über subj. Ermüdung	−36*)	−25	−26	8
M., "	Nach d. Arbeit subj. stark ermüdet	0	−17	13	14
	B. Geistige Arbeit.				
D., cand. agr.	In 2 Versuchen ***morgens nervöse Beschwerden,*** abends subj. frisch. Typ der Abendarbeiter . . .	−53 23	−33 −25	0 −19	−50 −13
K. B., Postassistent	Nach *11 Stunden Nachtdienst* subj. wenig ermüdet. Keine Herabsetzung der Spannkraft	−48	33	−10	−39
E. B., Telegraphistin	Am Abend subj. wenig ermüdet, Erholung nach Klavierspielen.	−75	−66	19	−10
	Subj. ermüdet	−57	0	78	30
W. E., cand. phil.	*Morgens subj. müde,* abds. frischer	−18	−33	188	250
	C. Koordinationsarbeit.				
H., Elfenbeinschnitzer	*Abends größere Arbeitslust,* subj. nicht ermüdet	−26	−33	−61	66
B., Optiker	Nach d. Arbeit Augen angestrengt, subj. ermüdet	43	−20	57	217
R., Elfenbeinschnitzer	Nach der Arbeit geringe Ermüdung	47	25	50	−10
	D. Körperliche und geistige Arbeit.				
Schwester M.	*Morgens stärkere nervöse Beschwerden,* abends frischer. (War 1 Jahr wegen Nervosität in Anstalt.) .	−69	−33	−7	0
Schwester H.	*Abends subj. frischer*	0	−50	−43	−60

*) Das − Vorzeichen bedeutet, daß das Resultat nach der Arbeit um die angegebene Prozentzahl besser war.

Abszisse wurde der Ermüdungsfehler in Prozent aufgetragen, nach rechts vom Koordinatenanfangspunkt die positiven, d. h. schlechteren Resultate nach der Arbeit, nach links die negativen, d. h. besseren Resultate nach der Arbeit. Auf der Ordinate wurde die Anzahl der Personen aufgetragen. Die Kurve zeigt uns, wieviel Personen auf die einzelnen Fehlerprozente entfallen, außerdem die Ausdehnung der Größe der Fehlerprozente nach der negativen und positiven Seite hin. Ihr Verlauf läßt deutlich erkennen, sowohl auf der zusammenfassenden

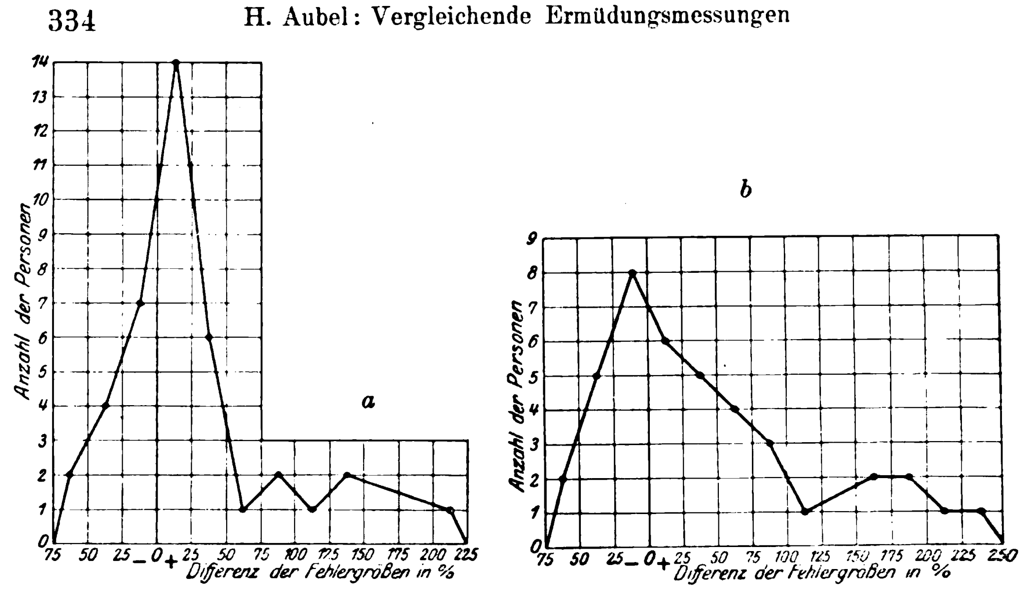


Abb. 2. *a*) Schätzung der kurzen Strecken, *b*) der langen Strecken von allen 4 Arbeitsgruppen zusammengestellt.

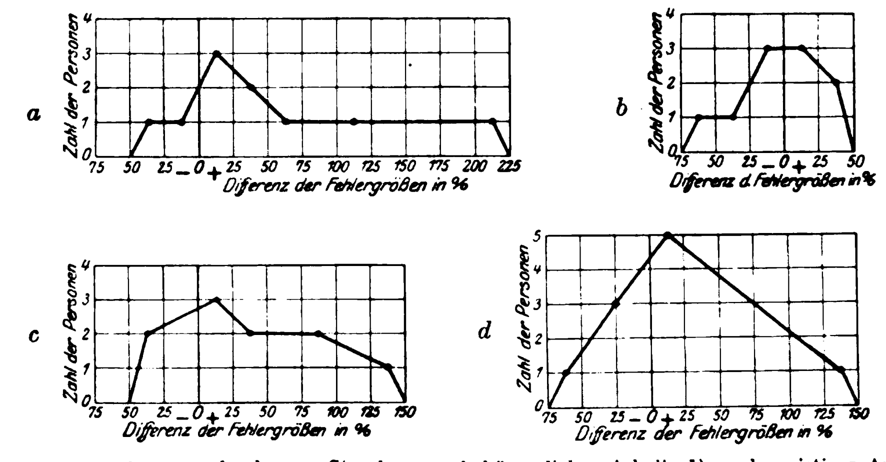


Abb. 3. *a*) Schätzung der kurzen Strecken nach körperlicher Arbeit, *b*) nach geistiger Arbeit, *c*) nach Koordinationsarbeit, *d*) nach körperlicher und geistiger Arbeit.

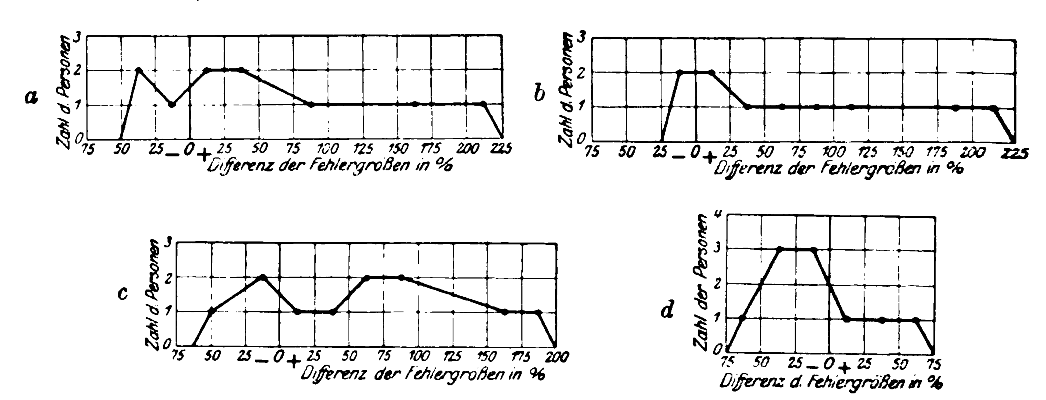


Abb. 4. *a*) Schätzung der langen Strecken nach körperlicher Arbeit, *b*) nach geistiger Arbeit, *c*) nach Koordinationsarbeit, *d*) nach körperlicher und geistiger Arbeit.



(Abb. 2) wie den Einzeldarstellungen (Abb 3 u. 4), daß die Besserung des Augenmaßes nach der Arbeit nur einen geringeren Betrag (75%) erreicht, während die Verschlechterung bis zu dem hohen Betrag von 225% steigt. Sinnfällig wird dies durch den Verlauf der Kurven aufs deutlichste ausgedrückt, indem sich die Kurven viel weiter nach rechts nach der Seite der schlechteren Resultate nach der Arbeit erstrecken als nach links. Hieraus geht ohne weiteres mit Deutlichkeit hervor, daß der Einfluß der Ermüdung auf das Augenmaß bedeutend größer (etwa 3 mal so groß) ist als der Einfluß der Übung. Außerdem ist leicht ersichtlich, daß bei der Mehrzahl der Kurven die größte Anzahl der Personen, d. h. der Gipfel auf der Seite der positiven schlechteren Resultate nach der Arbeit gelegen ist. Das entgegengesetzte Verhalten zeigt, dem schon besprochenen Typus des Abendarbeiters entsprechend, die Kurve der kurzen Strecken für die geistigen Arbeiter (Abb. 3b) und die Kurve der langen Strecken für die gemischte Gruppe von körperlicher und geistiger Arbeit (Abb. 4d).

Zusammenfassung.

1. Es besteht ein verschlechternder Einfluß der Ermüdung auf das Augenmaß, der etwa 3 mal so groß ist als im besten Falle der Einfluß der Übung.

2. Es empfiehlt sich, zur Ermüdungsmessung durch Augenmaßprüfung lange und kurze Strecken gemeinsam zu verwenden.

3. Der objektive Befund der Augenmaßprüfung stimmt mit den subjektiven Angaben über die Ermüdung überein.

4. Die Augenmaßprüfung ist ein wertvolles Hilfsmittel zur Feststellung der verschiedenen Arbeitstypen und des Ermüdungswertes der einzelnen Arbeitsarten.

Ich betrachtete es als meine Aufgabe, durch eine genauere Untersuchung und Analyse der Methode eine Grundlage zu schaffen, auf der die Methode weiter angewandt werden kann.

Die sozialen Gesichtspunkte fordern gerade in unseren Tagen eine Feststellung des Ermüdungswertes, d. h. der Ermüdungswirkung der einzelnen Arbeitsarten, auf Grund deren allein eine gerechte Verteilung der Arbeitszeit und Entlohnung möglich ist. Für den Lohn der Arbeit spielt außerdem die Frage nach dem Wert der Arbeit für die menschliche Gemeinschaft eine große Rolle. Als schwerste Arbeit müssen wir jedenfalls diejenige Tätigkeit ansehen, die die größte Ermüdung verursacht. Es erscheint aber sehr fraglich, ob hierzu immer nur die sogenannte körperliche Schwerarbeit zu rechnen ist.

Die große hygienische Bedeutung der Ermüdungsmessungen liegt darin, daß rechtzeitig der Gefahr der Erschöpfung des einzelnen, wie



einer Erschöpfung der Lebenskraft des ganzen Volkes vorgebeugt werden kann.

Zum Schlusse meiner Arbeit habe ich die Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *Gotschlich*, für die Überlassung der Aufgabe und die wertvollen Anregungen und gütige Unterstützung meinen Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

[1]) *Münsterberg*, Grundzüge der Psychotechnik. Leipzig 1914. — [2]) *Pauli*, Psychologisches Praktikum. Jena 1920. — [3]) *Kraepelin*, Über Ermüdungsmessungen. Arch. f. d. ges. Psychol. **1**. Leipzig 1903. — [4]) *Boruttau*, Die Arbeitsleistungen des Menschen. Leipzig—Berlin 1916. — [5]) *Ruttmann*, Begabung und Arbeitsleistung. Leipzig—Berlin 1916.



(Aus dem Bakteriolog. Institut der Charkower Medizinischen Gesellschaft [Direktor Prof. *J. Korschun*].)

Über die bakteriologischen Blutbefunde bei Fleckfieber-kranken.

Von
Dr. M. Glusman und Dr. L. Kandiba.

Aus der Reihe der Bakterien, die von verschiedenen Autoren beim Fleckfieber beschrieben worden sind, lenkt ein anaerobes Stäbchen die Aufmerksamkeit auf sich, welches von *Plotz* und seinen Mitarbeitern (*Olitzky*, *Baehr*) aus dem Blute gezüchtet worden ist, und zwar in 27 Fällen bei 46 Erkrankten. Um die Kultur dieses Mikroorganismus zu erhalten, muß man sich eines besonders dazu angefertigten sauren Ascitesagarnährbodens bedienen. Das *Plotz*sche Stäbchen agglutinierte mit Fleckfieberserum bei einer Verdünnung von 1:50—100 (in 39 Fällen von 42) und gab eine spezifische Komplementbindung nach der Methode von *Bordet-Gengou* mit Fleckfieberkrankenserum in 71,8%. Es gelang außerdem hin und wieder Meerschweinchen mit diesen Stäbchen zu infizieren; in vielen Fällen war es möglich bei Meerschweinchen, die mit Blut von Fleckfieberkranken infiziert waren, die *Plotz*schen Stäbchen auf der Höhe der Erkrankung nachzuweisen. *Auf Grund dieser Untersuchungen hält Plotz dieses Stäbchen für den Erreger des Fleckfiebers.* Daß es häufig gelingt, den Mikroorganismus aus dem Blute zu züchten und ihn mit Fleckfieberserum zu agglutinieren, haben *M. Popoff*, *Paneth* und *Przygode* bestätigt.

Indem wir uns der ursprünglichen Methode von *Plotz* bedienten, legten wir 27 Kulturen mit Blut von Fleckfieberkranken an, und zwar am 3.—10. Tage nach der Erkrankung und züchteten in 17 Fällen (63%) das Stäbchen von *Plotz* — am häufigsten am 3.—7. Krankheitstage. Auffällig ist das anfänglich sehr geringe Wachstum der aus Blut angelegten Kulturen, was nach unserer Meinung dadurch zu erklären ist, daß im Blut nur wenig Stäbchen enthalten sind. So erhielten wir unter 8 je mit 2 ccm Blut versetzten Kulturröhrchen nur in 1—2 ein positives Resultat, in Form von 1—2 charakteristischen Kulturen. Weiter bemerkt man eine Veränderlichkeit der Form des Stäbchens in der Kultur vom Kokkobacillus bis zu einem langen Stäbchen in mit Zucker versetzter Bouillon unter aeroben Bedingungen und eine



Labilität gegenüber der positiven Färbung nach Gram. Trotzdem es uns anfänglich bei den ersten Kulturen an Ascitesflüssigkeit fehlte, so bekamen wir doch bei den folgenden Kulturpassagen hin und wieder Wachstum des *Plotz*schen Stäbchens auch auf gewöhnlichen Nährböden, besonders bei Zusatz von Dextrose. Die saure Reaktion des Ascitesagars, welche für die 1. Generation notwendig ist, wird, um ein optimales Wachstum von der 2. Generation an zu erreichen, durch eine schwach basische ersetzt. Nach wiederholter Überimpfung gewinnt das *Plotz*sche Stäbchen nach 1—2 Monaten hin und wieder die Eigenschaft, auch bei Luftzutritt zu wachsen. Unveränderlich bleiben das Wachstumsoptimum bei 37,5—38° C und das fehlende Wachstum bei Zimmertemperatur. Ebenso konstant vergären die Kulturen Dextrose und Lävulose, während Lactose, Mannit, Milch und Gelatine nicht vergoren werden. Das Wachstum der *Plotz*schen Stäbchen wird gefördert außer durch Ascitesflüssigkeit durch Zusatz von defibriniertem menschlichem Blut, Organteilen von Laboratoriumstieren, Glycerin und Traubenzucker. Was die Immunitätsreaktionen betrifft, so haben wir in bezug auf das *Plotz*sche Stäbchen die Agglutination und Bakteriotropie, die bactericiden Eigenschaften und die Komplementbindung (nach *Gengou*) geprüft. Während die oben erwähnten Autoren eine spezifische Agglutination erhalten haben (unter dem Mikroskop), haben wir das niemals sicher konstatieren können. Alles Gesagte gilt für gewöhnliche Kulturen unter den sonst üblichen Kautelen, aber auch für Nährböden von verschiedener NaCl-Konzentration, bei verschiedenen Temperaturen im Thermostat (36—50° C). Wir haben keine Agglutination erhalten weder mit Fleckfiebersera, noch mit Kaninchenserum, welches mit *Plotz*schen Stäbchen gewonnen war und einen Komplementbindungstiter von 0,001 ccm hatte. Die Ursache liegt darin, daß das *Plotz*sche Stäbchen keine homogene Emulsion gibt. Die Frage der Anwesenheit von Agglutininen wird unter diesen Umständen kaum zu lösen sein. Nur in den Fällen, wo wir eine Kultur von *Plotz*schen Stäbchen anwandten, welche sich als aerob erwies und gut emulgierbar war, bekamen wir einige Male eine Agglutination mit Fleckfieberserum in Verdünnung von 1: 50—80.

Einige Versuche zeigten, daß das Serum von Rekonvaleszenten wohl Bakteriotropine aber keine bactericiden Eigenschaften für das *Plotz*sche Stäbchen enthält, weder frisches noch inaktiviertes Rekonvaleszentenserum (0,5—0,01 ccm), zusammen mit Meerschweinchenkomplement ergab eine klare Wirkung. Wir haben auch zahlreiche Versuche gemacht, um im Fleckfieberserum die *Bordet-Gengou*schen Antikörper festzustellen. Als Antigen verwendeten wir eine unerhitzte Bouillonkultur, welche durch Zentrifugieren und Auswaschen mit physiologischer Lösung von Nährsubstraten befreit war. Als Versuchs-



dosis des Antigens (0,25—0,3 ccm) diente uns die Menge, welche in halber Dosis eine spezifische Bindung mit Immun-Kaninchenserum gab, in doppelter Dosis das Komplement nicht aufbrauchte und für sich keine Hämolyse ergab. Die Menge des angewandten Komplements wurde durch vorhergehende Titration bei Anwesenheit von Antigen bestimmt. Natürlich wurde jede Untersuchung durch Normalsera kontrolliert und durch einen Versuch mit Immun-Kaninchenserum.

Im übrigen wurden die Versuche wie sonst üblich vorgenommen. Die Antigene wurden aus Agarkulturen gewonnen, die in je 8 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und *mit* $^1/_4$% *Phenol konserviert* wurden. Das Ergebnis wurde nach 18 Stunden festgestellt, und als positives Resultat auch eine nur teilweise Bindung (+) angesehen bei einwandfreier Kontrolle.

Als erstes stellte sich heraus, daß die Antigene aus *Plotz*schen Stäbchen verschiedenen Ursprungs keinen Unterschied aufwiesen. Wir haben 126 Fleckfieber-, 16 Unterleibstyphusseren und 1 Unterleibsflecktyphusserum untersucht. Ein positives Resultat erhielten wir mit 81 Flecktyphusseren (64%) und mit 3 Seren von Unterleibstyphus. In den meisten Fällen schwankte der Titer der Sera zwischen 0,01 und 0,04 ccm. Vor der Krisis beobachteten wir Bindung in 50% der Fälle und bei Rekonvaleszenten in 70% der untersuchten Seren. In 86 Fällen ist bei denselben Seren auch das Antigen aus X 19 untersucht worden, wobei die Bindung wider Erwarten nur mit 7 Seren eintrat.

27 Fleckfieberseren sind mit Antigen untersucht worden, welches mit Typhusbacillen gewonnen war, wobei von 4 Fällen mit positivem Widal eine Bindung nur mit einem Serum in Verdünnung von 1:50 erzielt wurde.

Die Antigene von B. xerosis, pyocyaneus, staphylococcus aureus gaben kein einziges Mal eine Bindung mit Fleckfieberserum.

Die syphilitischen Antigene, welche zur WaR. verwendet werden, gaben in 86 Fällen von Flecktyphussera nur 12 mal eine Bindung, was bereits aus der Literatur bekannt ist (*Cathoire*, *Delta*, *Papamarku*, *Bofinger*, *Tuschinsky*).

Bei der Mischinfektion mit Typhus ergab das Serum weder eine Bindung mit dem Antigen von *Plotz* noch mit dem von *Eberth-Gaffky*. Zur Prüfung der Methode untersuchten wir 17 Seren von Unterleibstyphus mit 2 Antigenen aus *Eberth-Gaffky*schen und *Plotz*schen Stäbchen. Die Bindung des Komplements mit Typhusbacillen wurde in 7 Fällen (42%) erzielt, wobei in 1 Falle sich auch eine positive Reaktion mit dem *Plotz*schen Antigen ergab.

Zwei Seren von Typhus abdominalis, welche mit den *Eberth-Gaffky*schen Stäbchen bei positiver Widal-R. keine Bindung gaben, ergaben hingegen eine Bindung mit dem *Plotz*schen Stäbchen. Diese nicht-



spezifische Bindung veranlaßte uns, im großen eine Untersuchung der Normalsera auf *Bordet-Gengou*sche Antikörper gegenüber dem *Plotz*schen Stäbchen vorzunehmen. Bei diesen Seren wurde in 47 Fällen (40%) eine Bindung des Komplements mit dem *Plotz*schen Antigen erzielt, und zwar in denselben Grenzen.

Dies Verhalten spricht gegen das Stäbchen als Erreger des Fleckfiebers.

Wir haben dann eine Reihe von Kulturen nach *Plotz* als Kontrolle bei anderen Krankheiten angelegt. Im Blut von 9 Recurrensfällen wurde kein einziges Mal das *Plotz*sche Stäbchen gefunden. Wir erwähnen noch, daß *Plotz* 198 negative Kontrollversuche angestellt hat. Es interessierte noch festzustellen, wieweit die von anderen Autoren (besonders die von *M. Rabinowitsch* und *Predtetschensky*) beschriebenen Mikroorganismen sich als spezifisch für den Flecktyphus erweisen.

Wir untersuchten 18 Flecktyphuskranke mit charakteristischen klinischen Befunden und positiver *Weil-Felix-R.* Wir legten vom 3. bis 6. und 13. Krankheitstage Blutkulturen an nach *Plotz*, *Rabinowitsch* und *Predtetschensky*. Die Nährböden wurden genau nach den Vorschriften der Autoren angelegt, nur bei dem Nährboden von *Rabinowitsch* (Fleischpepton, Glycerinascites-Bouillon mit Nierenstückchen, Hoden und Leber von Meerschweinchen und Kaninchen unter Vaseline), hielten wir die Nährböden nicht nur 24 Stunden im Thermostat, sondern, um eine Garantie für die Sterilität derselben zu haben, 3 bis 14 Tage bei 37° und 5 Tage bei Zimmertemperatur, sowohl nach Hinzusetzen der Organteile, als auch des Ascites. Auf diese Weise gaben wir zufällig verschleppten Mikroorganismen die Möglichkeit, sich an die neuen Lebensbedingungen zu gewöhnen und rechtzeitig ihr Wachstum zu dokumentieren. So ergaben z. B. kleine Gläschen mit Organstückchen im Bouillon, die bei weiterer Passage steril blieben, nach Zusatz von Ascitesflüssigkeit in einem großen Prozentsatz der Fälle Bakterienwachstum, ungeachtet dessen, daß eine gleichzeitig hergestellte Ascites-Bouillon aus demselben Material sich als steril erwies. Ungeachtet aller aseptischer Vorkehrungen blieb nur ein geringer Teil der hergestellten Nährböden (20%) steril. Es verlohnt sich der Mühe zu erwähnen, daß wir hin und wieder eine Verunreinigung des Nährbodens von *Rabinowitsch* in Form von atypischen Diplokokken trafen, welche sich durch ein langsames Wachstum auszeichneten.

Von 18 Kranken wurde in 9 Fällen das Blut gleichzeitig nach *Plotz*, *Rabinowitsch*, und in 5 Fällen auch nach *Predtetschensky* untersucht, wobei das *Plotz*sche Stäbchen in 6 Fällen gefunden wurde. Nach *Rabinowitsch* erwies sich das Blut in 7 Fällen als steril, von 2 Kranken bekamen wir einen weißen Staphylokokkus. Der Nährboden von *Predtetschensky* erwies sich in 4 Fällen als steril, und in einem Falle bekamen wir Staphylokokken. *Nach Plotz untersuchten wir im ganzen 12 Kranke*



in 8 Fällen mit positivem Resultat, in einem Falle mit unklarem und in 3 Fällen mit negativem Resultat. Nach Rabinowitsch im ganzen 15 Fälle, von denen 12 steril waren und 3 Fälle Staphylokokken aufwiesen. Also haben nur die Kulturen nach *Plotz* ein positives Resultat ergeben. Wir weisen noch darauf hin, daß es *Lewin*[1]) in 25 Fällen nicht gelungen ist, die Ergebnisse von *Predtetschensky* zu bestätigen.

Wie bekannt, gelang es *Plotz*, mit seinen Stäbchen Meerschweinchen zu infizieren, auch vermochte er aus dem Blut von Meerschweinchen, die er vorher mit Fleckfieberblut gespritzt hatte, Kulturen zu züchten. Wir wiederholten die Versuche von *Plotz* (Zentralbl. f. Bakteriol., Orig. Bd. 64, Journ. of Infect. Dis. 1915, Bd. 17) und versuchten, Fleckfieber bei Meerschweinchen durch Injektion von *Plotz*schen Stäbchen zu erzeugen, den Mikroorganismus aus dem Blute von Meerschweinchen, die vorher mit Fleckfieberblut gespritzt waren, zu züchten und schließlich die spezifischen Eigenschaften des Serums dieser Tiere zu bestimmen.

Bei den ersten Versuchen mußten wir uns von der apathogenen Natur dieses Mikroorganismus überzeugen: eine ganze Bouillonkultur (etwa 8 ccm), welche in die Bauchhöhle bzw. ins Herz injiziert wurde, rief keinerlei Reaktion hervor. Bei diesen Versuchen verwandten wir Kulturen der 3. und 4. Passage. Um den Vorwurf zu entkräften, wir hätten uns bei den Versuchen nicht frisch erhaltener Stämme bedient, wiederholten wir diese Experimente mit Material, welches wir direkt aus dem Blute Flecktyphuskranker erhielten (aus einer Blutkultur), und mit Kulturen von zweiwöchiger Züchtung in vitro nach der 2. Laboratoriumspassage (die Meerschweinchen Nr. 2, 3, 28, 14, 15, 16, 17). Die Temperatur der Versuchstiere wurde 2 mal täglich gemessen im Laufe von 7—30 Tagen vor dem Versuch und noch einen Monat lang nach der Infektion; während dieser Zeit wurde täglich das Gewicht kontrolliert. *Der Charakter der Temperaturkurven vor und nach der Injektion gestattete keinen Schluß auf eine überstandene Krankheit*, welche auf die übertragenen Bakterien zurückzuführen wäre, da die Temperaturschwankungen zwischen 37 und 38,5° auch vor und nach der Injektion zu verzeichnen waren. In bezug auf Gewicht, Nahrungsaufnahme und Habitus, konnten wir niemals eine Veränderung feststellen. Kein einziges von den Meerschweinchen starb während der Beobachtungszeit.

Die geschilderten Experimente zwingen uns also zur Schlußfolgerung, daß der Mikroorganismus, mit welchem dieselben angestellt wurden, nicht pathogen für Meerschweinchen ist und sich somit nicht zur Erzeugung des experimentellen Fleckfiebers eignet.

Es war interessant, das *Schicksal des Stäbchens im Organismus des Meerschweinchens* zu verfolgen. Zu diesem Zwecke wurde den Meer-

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol., Orig. **60**, 44.

schweinchen 30 und 31 je 4 ccm lebende Bouillonkultur in die Bauchhöhle injiziert und die Flüssigkeit aus der Bauchhöhle mikroskopisch untersucht. 10 Stunden nach Beginn des Versuches fanden wir im Exsudat schon keine freien Stäbchen mehr: sie waren alle von Phagocyten aufgenommen worden, in welchen sie nach 6 Tagen nach *Gram* und *Giemsa* nachzuweisen waren. Allmählich nahm das Exsudat wie auch die Menge der Zellen mit den Bakterien ab; wir bemerkten auch eine Abschwächung in der Färbbarkeit der Stäbchen. Das endgültige Schicksal der durch Phagocyten gefressenen Stäbchen konnten wir nicht weiter verfolgen. Eine Kultur aus dem Exsudat ergab nach 6 Stunden ein positives Resultat.

Um den *Einfluß des spezifischen Serums* auf die Schnelligkeit zu prüfen, mit der die in die Bauchhöhle eingeführten *Plotz*schen Stäbchen vernichtet werden, machten wir folgenden Versuch: Wir injizierten dem Meerschweinchen 32 vor der Infektion mit den Mikroben 1 ccm Serum vom Kaninchen in die Bauchhöhle. Das Kaninchen war vorher mit *Plotz*schen Stäbchen immunisiert worden. Dem Meerschweinchen 33 injizierten wir 1 ccm Serum vom normalen Kaninchen, und dem Meerschweinchen 34 physiologische Lösung. Eine mikroskopische Untersuchung des Exsudates zeigte, daß das spezifische Serum keinen Einfluß auf das Schicksal der Stäbchen hatte. Wir konnten an den Stäbchen auch keine Veränderung der Form feststellen. Mit demselben Resultat injizierten wir dem Meerschweinchen 36 ein Gemisch von Bakterien und spezifischem Serum in die Bauchhöhle und dem Meerschweinchen 38 eine reine Bouillonkultur.

Die angeführten Versuche sprechen dafür, daß das Plotzsche Stäbchen sich lange Zeit lebensfähig im Organismus des Meerschweinchens erhalten kann, ohne dabei eine erkennbare Reaktion hervorzurufen.

Zum *Nachweis der Plotz*schen *Stäbchen im Blute der Meerschweinchen*, welche vorher mit Blut von Fleckfieberkranken gespritzt worden waren, wurden 22 Tiere mit Blut von 15 Kranken geimpft. Von diesen Tieren erhielten Nr. 7, 8 und 9 5 ccm eines Gemisches aus Citratblut von 4 Kranken in die Bauchhöhle. 15 Meerschweinchen (Nr. 4, 5, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 27) bekamen je 3 ccm Blut auf folgende Art: die Nr. 4, 5, 10, 11, 12, 13 Blut vom Kranken 1, die Nr. 18, 19, 20: von einem zweiten Kranken; Nr. 21 und 25: vom 3.; Nr. 24 und 27: vom 4.; Nr. 26, 29, 35 erhielten je 3 ccm Blut ins Herz vom 5. Kranken. Es wurden dabei typische Fälle ausgewählt mit hoher Temperatur und charakteristischem Exanthem am 6. bis 12. Krankheitstage. Das Gewicht der Versuchstiere betrug 300—400 g. Nur 2 von ihnen wogen über 500 g. Bei den meisten Meerschweinchen wurde die Temperatur 2 mal täglich im Laufe von 7 bis 20 Tagen vor der Ansteckung gemessen, bei den Tieren Nr. 21, 24, 25, 26, 27, 28 über einen Monat

vorher. Nach der Infektion wurden die Meerschweinchen mindestens einen Monat lang kontrolliert, wobei sich bei keinem einzigen Tiere auch nur um 3 Tage anhaltende Temperaturerhöhung zeigte, die die Diagnose Fleckfieber gestattet hätte. Auch der Allgemeinzustand wies keine Veränderung auf. Es starben folgende Tiere: Nr. 4, 19 und 29. Die Sektion ergab bei Nr. 4 eine fibrinös-eitrige Peritonitis, bei 19: eine Diplokokkussepticämie, und bei 29: eine Pleuropneumonie. *Hiernach war es uns unmöglich, aus Meerschweinchenblut auf der Höhe der Erkrankung den Mikroorganismus zu züchten, da die Erkrankung bei den Tieren ausblieb.*

Nun finden wir in der Literatur sehr zahlreiche Experimente, die den betreffenden Autoren zufolge die Möglichkeit der experimentellen Fleckfieberinfektion des Meerschweinchens beweisen (*Nicolle* und seine Mitarbeiter, *Garend* und *Girard*, *Anderson* und *Goldberger*, *Rocha-Lima*, *Otto* und *Dietrich*, *Landsteiner*, *Doerr* usw.)

Nun wäre es aber möglich, aus dem Blute infizierter Meerschweinchen den Mikroorganismus nach *Plotz* zu züchten, auch ohne daß sich bei den Tieren eine Reaktion einstellt. Hiervon haben uns die Versuche überzeugt, die uns Aufschluß gaben über das Schicksal des Mikroorganismus in der Bauchhöhle des Meerschweinchens. Wie bereits erwähnt, fanden wir 6 Tage nach Injektion der Bakterien in die Bauchhöhle des Meerschweinchens dieselben in den Leukocyten wieder. Es war daher möglich, daß man die mit Blut von Fleckfieberkranken injizierten Bakterien nach einiger Zeit aus dem Blute des Meerschweinchens züchten könne. Zu diesem Zwecke arbeiteten wir mit 4 Meerschweinchen, denen wir aus dem Herzen der Reihe nach Blut für das Kulturverfahren nach *Plotz* entnahmen, und zwar vom 3. Tage beginnend. Tatsächlich ergab das Blut eines Tieres am 7. Tage nach der Injektion ins Herz ein positives Resultat beim Kulturverfahren nach *Plotz*.

Morphologisch, serologisch und biologisch erwies sich der Mikroorganismus den wir erhielten, identisch dem *Plotz*schen Stäbchen, welches man im Blute der Flecktyphuskranken findet.

So zeigen denn unsere Versuche, *daß man das* Plotz*sche Stäbchen aus dem Blute Flecktyphuskranker züchten kann, daß man dasselbe auch vom Meerschweinchen erhält, welches vorher mit menschlichem Flecktyphusblut infiziert ist. Weiter sehen wir, daß das Stäbchen nicht pathogen für Meerschweinchen ist, und daß seine Rolle in der Ätiologie des Flecktyphus noch ungeklärt ist.*

Erwähnen wir noch die Resultate, die sich bei Untersuchungen von *Meerschweinchenserum* ergeben haben, die mit Blut von Flecktyphuskranken infiziert wurden. *Plotz* fand keine Immunkörper im Serum dieser Meerschweinchen. Wir erhielten ebenfalls keine Komplementbindung des *Plotz*schen Antigens an das Serum mit Flecktyphus geimpfter Meerschweinchen.



Wir entnahmen den Meerschweinchen 20—25 Tage nach der Infektion Blut, in der Voraussetzung, daß sie in dieser Zeit bereits einen Flecktyphusanfall überstanden haben mußten. Es ist interessant, daß das Serum dieser Meerschweinchen auch keine WF-Reaktion ergab — ein Umstand, den bereits *Ritz* in seinen Arbeiten erwähnt. Er erklärt das Fehlen der Reaktion bei den Flecktyphustieren dadurch, daß der Proteus überhaupt nichts mit dem Flecktyphus zu tun hat, sondern nur als zufälliger Befund beim Flecktyphuskranken anzusehen ist. Das Fehlen der WF-Reaktion beim infizierten Meerschweinchen spricht jedoch, wie auch *Friedberger* annimmt, gegen den experimentellen Flecktyphus beim Meerschweinchen, wenn man andererseits in Betracht zieht, daß die WF-Reaktion in 100% der Fälle beim Flecktyphus vorhanden und als ein ständiges Symptom des Flecktyphus aufzufassen ist.

Um die Menge der *Plotz*schen Stäbchen und die Produkte ihrer Lebenstätigkeit im Blute Fleckfieberkranker zu beurteilen, immunisierten wir ein Kaninchen mit Blut von Fleckfieberkranken, indem wir ihm 15 ccm Blut auf verschiedene Arten injizierten von 4 Kranken (intravenös, subcutan, intraperitoneal). Das Serum wurde im *Bordet-Gengou*schen Versuch mit *Plotz*schen Stäbchen geprüft. Die Resultate der Versuche sprechen nicht dafür, daß diese Antikörper im Serum unseres Kaninchens in größerer Menge enthalten waren als im normalen Kaninchenserum. Augenscheinlich ist die Konzentration der *Plotz*schen Antigene im Blute Flecktyphuskranker nur gering, welcher Umstand wieder eher gegen die ätiologische Bedeutung der *Plotz*schen Stäbchen spricht.

Schließlich versuchten wir die Beziehung des *Plotz*schen Stäbchens zum Flecktyphus dadurch zu klären, daß wir mit diesem Mikroorganismus *prophylaktische Vaccinationen an Menschen* vornahmen, die der Infektion stark ausgesetzt waren. Wie bekannt, machte im Jahre 1915—1916 die amerikanische Mission mit *Plotz* an der Spitze einen solchen Versuch, der ein glänzendes Resultat zeitigte: von 5251 Geimpften erkrankten nur 3, wobei ein einziger Fall tödlich verlief.

Für die Vaccine verwandten wir eine auf 60° C erwärmte 8 Tage alte Ascites-Bouillonkultur, welche aus 6 *Plotz*schen Stämmen bestand und durch Zentrifugieren und Waschen von den Nährsubstraten befreit war. Die Bakterienaufschwemmung, welche übrigens keine feine Emulsion ergab, wurde colorimetrisch bis zu einem Gehalt von etwa einer Milliarde Bakterienkörper in 1 ccm verdünnt. Nach vorhergegangenen Versuchen an Tieren und an uns selbst wurde die Dosierung der Vaccine festgestellt, welche schließlich mit 5tägigen Zwischenräumen in folgenden Mengenverhältnissen injiziert wurde:

zum ersten Male etwa $^1/_2$ Milliarde Stäbchen (0,5 ccm Vaccine),
zum zweiten Male etwa 1 Milliarde Stäbchen (1,0 ccm Vaccine),
zum dritten Male etwa $1^1/_2$ Milliarde Stäbchen (1,5 ccm Vaccine).



Die Impfung wurde fast ausschließlich beim medizinischen Personal, welches den Kampf mit dem Fleckfieber in den Hospitälern aufnehmen sollte, angewandt. Es wurden im ganzen 145 Menschen geimpft, welche sich folgendermaßen gruppierten:

Ärzte	23
geschultes med. Personal	113
nicht med. Personal	9

von diesen bekamen:

eine dreifache Impfung	74 Personen
eine zweifache Impfung	35 „
eine einmalige Impfung	36 „

Bei 76 Personen stellte sich gar keine Reaktion ein; 67 reagierten auf die Injektion mit allgemeinem Unwohlsein, schlechtem Schlafe und lokalen Schmerzen, jedoch ohne entzündliche Erscheinungen. Die Temperaturerhöhung fehlt scheinbar bei den meisten Geimpften; nur bei 2 konnten wir eine Temperaturerhöhung auf etwa 38,5° C feststellen. Die Reaktionserscheinungen stellten sich im Laufe der ersten 12 Stunden ein und dauerten bis etwa 2 Tage lang.

Die Beobachtung der Geimpften ließ sich leider verhältnismäßig bald (nach etwa 6 Wochen) nicht mehr durchführen, so daß wir noch nicht berechtigt sind anzunehmen, die Geimpften seien auch weiterhin nicht an Fleckfieber erkrankt. In letzter Zeit ist es uns gelungen, 4 Fälle von nachträglich erkrankten Geimpften zu konstatieren, wovon einer tödlich verlief. Der letzte Fall bezieht sich auf eine dreifach geimpfte Person. Zwei Personen erkranken 10 und 30 Tage nach der 1. Injektion, eine Person 13 Tage nach der 2. Injektion. Die Impfungen nach *Plotz* schwächen den Verlauf der Erkrankungen nicht ab.

Auf Grund unseres relativ kleinen Materials wäre es zu gewagt, zu einer sicheren Schlußfolgerung zu gelangen. Immerhin berechtigen 4 Krankheitsfälle, von denen einer tödlich verlief, bei einer so kleinen Anzahl der Geimpften zu der Annahme, *daß die Vaccination nicht zur Immunität der Geimpften führt und auch keinen Hinweis auf die ätiologische Bedeutung des Plotz*schen *Stäbchens gibt.*

So bleibt uns von allem, was für einen ätiologischen Zusammenhang des *Plotz*schen Stäbchens mit dem Flecktyphus spricht, folgendes übrig: das *Plotz*sche Stäbchen wird zu 63% der Fälle im Blute der Fleckfieberkranken gefunden und fehlt, wie unsere Versuche erwiesen haben, im Blute von Rückfallfiebererkrankten, ebenso nach *Plotz* auch bei anderen Erkrankungen. Es soll unsere nächste Aufgabe sein festzustellen, ob es eine Möglichkeit gibt, aus infizierten Läusen das *Plotz*sche Stäbchen zu züchten.



Auf Grund unserer Versuche können wir fürs erste konstatieren:

1. Bei 63% aller Fleckfieberkranken findet man ein anaerobes Stäbchen, welches schon *Plotz* beschrieben hat.

2. Es ist nicht möglich dieses Stäbchen mit den Methoden anderer Autoren zu erhalten.

3. Das Stäbchen ruft beim Meerschweinchen kein Fleckfieber hervor, ist für sie nicht pathogen und scheinbar auch nicht für andere Tiere (Kaninchen).

4. Bei anderen Erkrankungen konnte dieses Stäbchen nicht beobachtet werden.

5. Im Blute von Fleckfieberrekonvaleszenten findet man im Versuche von *Bordet-Gengou* Antistoffe gegen das *Plotz*sche Stäbchen in 66%—70% der Fälle.

6. Dieselben Antikörper findet man aber auch im menschlichen Blute, das augenscheinlich keine Beziehung zum Flecktyphus hat, in 40% der Fälle.

7. Am ehesten mußte man bei dem *Plotz*schen Stäbchen an eine Beziehung zur Mischinfektion beim Flecktyphus denken.

8. Fürs erste fehlen genügende Tatsachen, um das *Plotz*sche Stäbchen für den Erreger des Fleckfiebers zu halten.

9. Die Menge der *Plotz*schen Stäbchen und ihrer Lebensprodukte ist im Blute der Flecktyphuskranken anscheinend nur gering.

10. Die Impfung mit *Plotz*schen Stäbchen ist unschädlich und scheint kaum Immunität gegen Flecktyphus zu erzeugen.



(Aus dem Bakteriologischen Institut der Charkower Medizinischen Gesellschaft [Direktor: Prof. *J. Korschun*].)

Über Kulturverfahren mit Gonokokken und deren Mutationsbildung.

Von

Dr. **L. Kandiba,**

Assistent des Institutes.

Bis in die letzte Zeit hinein ist viel Arbeit darauf verwandt worden, um eine verläßliche Methode zu schaffen, Gonokokken auf Nährböden zu züchten. Dabei zeigte sich, daß die Lebensfähigkeit der Gonokokkenkultur nur sehr gering ist. Unsere Versuche bezogen sich hauptsächlich auf letztere Eigenschaft der Gonokokken, und es erwies sich als relativ einfach, in dieser Hinsicht die Nährböden zu verbessern.

Wie unsere Versuche zeigten, ist die Gonokokkenkultur sehr temperaturempfindlich und verträgt Zimmertemperatur nicht mehr als 1—3 Tage lang. Die Gonokokken können sich nur bei einer Temperatur von 36—38,5° C vermehren und ihre Lebensfähigkeit beibehalten. Der Gonokokkus kann sich auch nicht auf ein mangelhaftes Nährmaterial einstellen. Hieraus ersehen wir, daß der Gonokokkus im Gegensatz zu anderen Bakterien, nicht lange im Zustand der Anabiose verweilen kann. Wenn man diesen Umstand ins Auge faßt und die Gonokokkenausstriche nicht, wie sonst üblich, über die ganze Oberfläche des Nährbodens anlegt, sondern so, daß das Kokkenmaterial (aus einer Kultur) nur an einer Stelle, die man mit der Öse berührt, verrieben im Thermostaten bei 37° C gehalten wird, so sehen wir, daß die Kulturen in einer Kolonie wachsen und solange gedeihen als ihnen freie Oberfläche des Nährmaterials und genügend Feuchtigkeit zur Verfügung stehen. Besonders gute Resultate werden mit Ascitesagarnährböden erzielt, die man am besten in großen flachen Kolben anlegt und mit gutsitzenden Wattebäuschen schließt. Die sich entwickelnden Kolonien sind von rundlicher Form, häufig mit Ausläufern und unregelmäßigen Rändern, von gelbgrauer Farbe und erreichen in einigen Wochen einen Umfang von 2—4 cm im Durchmesser. Manchmal beobachtet man die Entwicklung von sekundären Kolonien, welche stecknadelkopfartige Erhöhungen bilden. Mit dem Mikroskop kann man sich davon überzeugen, daß die typisch lebensfähigen Gonokkoken sich nur an der Peripherie der



Kolonie in Form eines Gürtels erhalten, während das Zentrum aus Zelldetritus besteht. Dieses periphere Wachstum dokumentiert sich in konzentrischen Randzonen. Wenn man sich zur Anlage von weiteren Kulturen nur der Randzonen bedient, so ist es leicht, sich davon zu überzeugen, daß die Lebensfähigkeit dieser Gonokokkenkulturen sich mindestens 6 Wochen lang erhält und unter besonders günstigen Verhältnissen der Temperatur und der Feuchtigkeit sogar die Dauer von 3 Monaten erreicht. Man darf auch nicht die Kulturen, wie *Picker*, der die seinigen bis zu 6 Monaten im Thermostat hielt, hermetisch verschließen, da die Nährböden leicht vertrocknen, in welcher Beziehung der Gonokokkus sehr empfindlich ist. Nach unseren Erfahrungen brauchen nicht nur die Gonokokken freie Luftzufuhr, sondern der mit einer Gummikappe abgeschlossene Ascitesagar wird auch bald ganz unbrauchbar für die Gonokokkenkultur, da sich schon im Laufe einer Woche ganz feine chemisch-physikalische Veränderungen einstellen. Letztere Eigenschaft des Ascitesagar ist wohl schon bekannt, doch beobachtet man sie beim nicht hermetisch verschlossenen Nährboden erst nach Monaten. Um das Eintrocknen nach Möglichkeit zu verhindern, fügten wir am Grunde des Kolbens stets sterile Aq. dest. hinzu, um das verdunstete Kondensationswasser zu ersetzen.

In den gewöhnlichen Reagensgläsern mit Ascitesagar erreichen die Gonokokkenkulturen bei einem solchen Verfahren einen Umfang von 1 cm und erhalten sich (in der Randzone) bis zu 2 und 3 Wochen lebensfähig.

Die Widersprüche, die sich in der Literatur in bezug auf die Eigenschaften der Gonokokken finden (Sauerstoff, Reaktion des Nährbodens, Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen, Wachstum auf gewöhnlichem Agar), sind wohl so zu erklären, daß man es erstens nicht für notwendig erachtete, die Kulturen dieses Mikroorganismus unter Anwendung serologischer Methoden zu prüfen; auch haben sich wohl nicht alle Autoren ein und desselben Mikroorganismus bedient. Zweitens zeigten unsere Versuche, daß beim Gonokokken Mutationen existieren (*Urban*), die bei ungünstigen Temperaturverhältnissen auftreten.

Wenn man die nach unserer Methode aufbewahrten Gonokokkenkulturen vorsichtig und nur kurze Zeit Temperaturen aussetzt, die sonst die Gonokokken vernichten, so beobachtet man Mutationen bei einigen Stämmen. Zu diesem Versuche eignen sich am besten für einige Stunden angewandte Temperaturen von 40—44° C; weniger eignen sich tiefe im Laufe von Tagen einwirkende Temperaturen zwischen 1—10° C. Größtenteils sterben die Kulturen bei diesem Verfahren ab, und nur bei einigen Stämmen zeigen sich Mutationen. So bekamen wir bei 49 Stämmen nur in 8 Fällen Mutationen. Bei der Mutation verändert sich die Morphologie der Gonokokken, die Kokken erfahren

in erster Linie eine Dehnung der Form, werden unansehnlicher und nähern sich in der Gestalt dem Pneumokokkus; man beobachtet auch hin und wieder Spindelformen. Im weiteren verlieren die Gonokokken diese Pneumokokkenähnlichkeit und bekommen wieder eine runde gonokokkenartige Form, erreichen jedoch nicht ihre ursprüngliche Größe.

Auch das Verhalten zur Färbung nach Gram ändert sich, und die Kokken färben sich zum Teil jetzt violett. Das Wachstum dieser Gonokokken auf Ascitesagar geht langsamer vor sich und ist nicht so üppig, wie unter normalen Umständen; dafür gedeihen sie auf gewöhnlichem Agar gleichmäßig, wenn auch schwach. Die Mutationen vertragen im Gegensatz zum Gonokokkus relativ gut Zimmertemperatur, doch zeigen sie dabei ebenfalls kein Wachstum auf den Nährböden. Bei der intraperitonealen Injektion am Meerschweinchen zeigen sie dasselbe Verhalten wie die Gonokokken: relativ große Dosen töten ein Meerschweinchen (200 g), wobei sich nicht viel serösfibrinöses Exsudat bildet, in welchem die Mutationen der Gonokokken innerhalb der Phagocyten wiederzufinden sind — genau dasselbe Bild, wie bei den normalen Gonokokken. Man erzielt auch hier, wie mit den Gonokokken, ein positives Resultat, wenn man der intraperitonealen Injektion eine Einspritzung vorausschickt, die die Schutzeinrichtungen der Bauchhöhle vernichtet, wozu einige Tropfen Milchsäure genügen. Man erhält dabei Kulturen aus dem Exsudat der Bauchhöhle, wie auch hin und wieder aus Blut, das dem Herzen entnommen wurde. Es ist uns bisher nicht gelungen, die Mutationen der Gonokokken durch mehrere Tierpassagen wieder zu ihrer ursprünglichen Form zurückzuführen, obwohl sich die Kokken im Exsudat in Form und Größe doch stark der charakteristischen Gonokokkenzelle nähern. Es ist interessant, daß es in Fällen von chronischer Gonorrhöe 2 mal gelang, direkt aus dem Eiter Mutationen von Gonokokken zu erlangen, in einem Falle gleichzeitig mit typischen Gonokokken. Die Zugehörigkeit der Mutationen zu den Gonokokken wird durch die Reaktion der Komplementbindung erhärtet, indem man bei den Versuchen mit Mutationen und Gonokokken abwechselnd Immunsera und Antigene von beiden verwendet. Es erwies sich schließlich bei allen Titrierversuchen mit Antigenen, daß, wenn z. B. der Titer des Gonokokkenantigens mit dem entsprechenden Serum 0,02 ccm war, so ergab der Titer der Mutationen mit demselben Serum einen nur etwas niedrigeren Wert von 0,03—0,04 ccm. In umgekehrter Reihenfolge ergaben die Versuche ganz analoge Resultate; ebenso wenn man das Serum titrierte unter Anwendung genügender Kontrollversuche mit anderen Antigenen und mit normalem Serum.

In einem Falle wurde die Schleimhautoberfläche der Urethra auf ihr Verhalten zur Infektion mit Gonokokkenmutationen untersucht. Zu diesem Zwecke brachten wir einem Kranken, der eben eine chro-



nische Gonorrhöe hinter sich hatte, einige Tropfen Gonokokkenmutation in die Fossa navicularis, nachdem letztere leicht arrodiert worden war. Das Resultat war vollkommen negativ, genau wie bei einer mehrere Tage darauf folgenden Kontrollimpfung beim selben Kranken mit verdünnter Aufschwemmung der Gonokokken, von denen die Mutationen stammten.

Unsere Versuche mit Gonokokkenkulturen auf gewöhnlichem Agar zeigten, daß Gonokokken in der ersten Generation auch auf Nährböden ohne menschliches Eiweiß Kulturen bilden, doch zeigen die Gonokokken der folgenden Generationen keine Beständigkeit in dieser Hinsicht. Man braucht hierbei keine speziellen Nährböden mit bestimmtem basischen Verhalten anzufertigen (*Thalmann*). Die Laboratoriumsstämme erwerben häufig selbst die Eigenschaft, auf gewöhnlichem Agar zu wachsen, wenn sie eine Reihe von Übertragungen auf Ascitesnährböden durchgemacht haben. Dieses Verhalten der Gonokokken zum gewöhnlichen Agar war schon aus den Arbeiten von *Thalmann*, *Wildbolz*, *Baermann* und *Urban* bekannt. Bei unserem Kulturverfahren ist die Lebensfähigkeit der Gonokokken etwas geringer als bei Anwendung von Ascitesagar.

Wir müssen noch erwähnen, daß zur Erlangung eines üppigen Wachstums der Gonokokken der Ascitesagar nicht mit Fleischwasser zubereitet wird, sondern mit einem Aufguß von Hammelleber und Milz zu gleichen Teilen, was auch in der Literatur erwähnt wird (*Baermann*). Ein gutes Wachstum auf flüssigen Nährboden erzielten wir nur bei Luftzutritt, und zwar bei breiter Oberfläche und dünner Schicht. Das Wachstum der Gonokokken erfolgt dabei am Boden eines flachen Kölbchens, welches horizontal liegt, und hat das Aussehen eines relativ umfangreichen schleimigen Niederschlages von weißer Farbe, wobei die Ascitesbouillon schwach getrübt ist.



Überempfindlichkeitsversuche an Bakterien [1]).

Von

Alfred Schnabel.

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" in Berlin.)

Auf dem Gebiete der allergischen Phänomene, zu denen die Erscheinungen der Überempfindlichkeit und des Unempfindlichwerdens im weitesten Sinne gehören, erheischt gegenwärtig die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Anaphylaxie und Idiosynkrasie bzw. die Möglichkeit einer Sensibilisierung höherer Lebewesen gegen Substanzen, die durch einen chemisch definierten, einfachen Bau ausgezeichnet sind, in praktischer und theoretischer Beziehung das größte Interesse. Eine erschöpfende kritische Darstellung des Sachverhaltes hat zuletzt *Doerr* gegeben, der auf die innige Verwandtschaft zwischen Anaphylaxie und Idiosynkrasie und auf die ausschlaggebende Rolle hinweist, welche in erster Linie der *Zelle* und weniger den humoralen Vorgängen im Tierkörper beim Zustandekommen dieser Erscheinungen zukommt.

Während die Forschung über Anaphylaxie sich mehr der direkten experimentellen Klärung dieser Erscheinung zuwenden konnte, war dies bei den als Idiosynkrasie zu deutenden Phänomenen vorerst nur auf indirektem, zum Teil analogisierendem Wege möglich. Es gelang zwar bisher nicht oder nicht mit Sicherheit, höhere Lebewesen gegen einfachere, chemisch definierte nicht-antigene Substanzen, also solche, für die mit den üblichen Methoden keine Antikörper nachgewiesen werden konnten, im Experiment überempfindlich zu machen; dagegen ist es eine bekannte Erfahrungstatsache, daß solche allergische Zustände, angeboren oder „spontan" erworben bestehen und ausgelöst werden können und daß sie sich durch Darreichung kleiner Gaben der betreffenden Substanzen beseitigen lassen, daß also eine Desensibilisierung möglich ist, analog jener bekannten Tatsache, daß gegen Eiweiß überempfindlich gemachte Meerschweinchen durch parenterale Einverleibung kleiner Mengen des homologen Eiweißes gegen letzteres unempfindlich gemacht werden können. Der Umstand aber, daß eine echte Anaphylaxie gegen chemisch definierte, niedrigmolekulare Substanzen im Experiment nicht ohne Zweifel festgestellt werden kann,

[1]) Siehe vorläufige Mitteilung in der Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 20.



daß aber andererseits Idiosynkrasien gegen derartige Substanzen zweifellos bekannt sind, schafft ein Problem, das der Klärung noch harrt.

Auf die Ursachen dieser letzterwähnten Erscheinungen soll hier nicht näher eingegangen werden. Es ist aber a priori nicht von der Hand zu weisen, daß neben anderen Gründen jene durch den einfacheren molekularen Bau der „nicht-antigenen" Substanzen bedingten besonderen Verteilungs- und Ausscheidungsverhältnisse im Tierkörper es sind, die eine direkte experimentelle Prüfung der anaphylaktogenen Eigenschaften dieser Substanzen unmöglich machen. Denn, daß solche Substanzen im Reagensglas Immunitätsreaktionen eingehen können, ist bekannt. Theoretisch besonders interessant und für das Verständnis der oben aufgeworfenen Fragen wichtig sind die neuen Untersuchungen von *Landsteiner*. Dieser Autor konnte zeigen, daß im Reagensglasversuch auch die als nicht-antigen geltenden einfachen Substanzen, mittels deren man also kein Immunserum erhalten kann, mit einem Immunserum reagieren, welches durch parenterale Zufuhr eines mit diesen einfachen Substanzen gekuppelten Proteins erhalten wurde. *Landsteiner* bediente sich hierzu eines Verfahrens, welches gewissermaßen als Negativ der Präcipatation erscheint und darauf beruht, daß eine spezifische Flockung durch Antigenüberschuß in spezifischer Weise gehemmt wird. So reagierte z. B. p-Aminobenzoesäure, die allein kein Immunserum liefert, mit einem durch Injektion eines para-Animobenzoesäureeiweiß gewonnenen Antiserum in der oben erwähnten Weise.

Überträgt man diese Tatsachen auf die Erfahrungen über Überempfindlichkeit gegen einfach gebaute Substanzen, so ist eine gewisse, wenn auch entfernte Analogie unverkennbar: ebensowenig wie man den Menschen oder das Tier gegen eine einfache Substanz mit Sicherheit überempfindlich machen kann, gelingt es, mit einer solchen Substanz nachweisbare Antikörper zu erzeugen; dagegen besteht die Möglichkeit, bei einem gegen eine bestimmte Substanz überempfindlichen Menschen durch eben diese Substanz Erscheinungen hervorzurufen oder ihn zu desensibilieren, ebenso wie es möglich ist, eine „nicht-antigene" Substanz im Reagensglas mit einem entsprechend hergestellten Antiserum in ein spezifisches Reaktionsverhältnis zu bringen. Die Analogie erscheint noch größer, wenn man an die innigen Beziehungen zwischen den Flockungserscheinungen und den Vorgängen bei der experimentellen Anaphylaxie der Versuchstiere denkt.

Wenn die Annahme, daß die Schwierigkeit der experimentellen Erzeugung einer Überempfindlichkeit gegen einfachere Substanzen beim höheren Lebewesen in erster Linie durch die besonderen Verteilungs- und Ausscheidungsverhältnisse bedingt ist, zutrifft, dann könnte es vielleicht möglich sein, diesen Zustand an einfacheren Lebe-

wesen zu erzeugen, insbesondere dann, wenn sich solche Versuche im Reagensglas ausführen und dadurch innigere und dauerhaftere Beziehungen zwischen dem Versuchsobjekt und der betreffenden Substanz herstellen lassen. Für derartige Versuche kämen Lebewesen, die sich im Reagensglas züchten lassen, wie gewisse Protozoen und Bakterien, in Betracht.

Daß Bakterien und Protozoen nach vorausgegangener Behandlung mit verschiedenen Substanzen auf dieselben quantitativ anders reagieren können als vor der Behandlung, ist bekannt. So gelingt es, z. B. Trypanosomen an solche Konzentrationen wirksamer Substanzen wie Trypanrot und dgl. zu gewöhnen, die ein Vielfaches der sonst von diesen Protozoen ertragenen Konzentration ausmachen. Durch fortgesetztes Züchten von Staphylokokken in Nährmedien mit steigendem Sublimatgehalt kann man diese Bakterien an Konzentrationen anpassen, die sie sonst unfehlbar töten. Auffallenderweise wurden diese sehr umfangreichen Erfahrungen bisher nicht in den Kreis der Betrachtungen über allergische Phänomene gezogen, obzwar es sich dabei um eine unter dem Einfluß der Vorbehandlung hervorgerufene veränderte Reaktionsfähigkeit, also um eine Allergie — im Sinne der Definition — handelt. Daran ändert nichts die Tatsache, daß es sich dabei durchweg um *primär* wirksame Substanzen handelt. Es ist dies in der Natur derartiger Versuche begründet. Man war bisher ja nur darauf bedacht, die Bakterien und Protozoen an *giftige* Substanzen zu gewöhnen und bediente sich als Indicators der Wachstumsverhinderung der Bakterien durch diese Substanzen, im Vergleich mit einem durch das Verhalten der unbehandelten Lebewesen gegebenen Standardwert als Maximum der Reaktivität.

Die Berechtigung, die bisher mehr vom Standpunkte der Variabilität betrachtete Erscheinung der Anpassung an Gifte oder Festigung niederer Lebewesen zum Komplex der allergischen Phänomene zuzurechnen, wird noch durch die Tatsache der oft ziemlich weitgehenden Spezifität dieser Erscheinung erhöht. Was aber dieser Erscheinung eine Ausnahmestellung zu verleihen schien, war der Umstand, daß das Gegenteil dieser als Festigung oder Gewöhnung bezeichneten Erscheinung der herabgesetzten Empfindlichkeit oder des Unempfindlichwerdens, die erhöhte Empfindlichkeit, also die Überempfindlichkeit, anscheinend nicht bekannt war. Wohl findet man bei Durchsicht der Literatur Angaben, aus denen man schließen kann, daß die von einigen Autoren gemachten Beobachtungen als Überempfindlichkeitserscheinungen gedeutet werden könnten. So beobachteten *Davenport* und *Neal*, daß zu konzentrierte, festigende Lösungen die Paramäcien gegen Gifte *empfindlicher* machen, anstatt sie abzuhärten. Diese Beobachtungen wurden zwar von *Neuschloß* bestritten: er studierte die



Erscheinung der Giftgewöhnung an Paramäcien durch Beobachtung deren Beweglichkeit; durch Fortzüchtung der Paramäcien in Nährlösungen mit steigenden Chininkonzentrationen gelangte er aber schließlich zu einer Konzentration (1: 100 000), deren Steigerung eine vorübergehende „Depression“ nach sich zog, die in einer Herabsetzung der Bewegungsgeschwindigkeit und Teilungsintensität zum Ausdruck kam und manchmal nach einigen Stunden, manchmal, besonders bei höheren Konzentrationen, erst in einigen Tagen wich. Die Protozoen gewannen dann ihre Beweglichkeit und Vermehrungsfähigkeit wieder. Dieses „Depressionsstadium“ trat bei Anwendung von giftigen Farbstoffen, wie Eosin, Methylenblau, Trypanblau noch stärker hervor, so daß die Konzentrationssteigerungen sehr vorsichtig vor sich gehen mußten. Trotzdem kam es oft zum Absterben der Kulturen bei Giftkonzentrationen, die bei ganz vorsichtigem Handhaben der Gewöhnung gut vertragen wurden. *C. Meissner* versuchte, Schimmelpilze an verschiedene Gifte zu gewöhnen. Von seinen Ergebnissen interessieren uns in erster Linie jene, die dieser Autor beim wiederholten Züchten der Pilze in den höchsten Giftkonzentrationen erzielte. Bei dieser Versuchsanordnung zeigten Mucor- und Peniciliumsporen einen Rückgang der Widerstandsfähigkeit gegen Chinin; bei wiederholter Züchtung in Phenollösung wurde Mucor gegen Phenol so empfindlich, daß er nicht fähig war, in der nächsthöheren Konzentration zu wachsen, obzwar das vorher möglich war. *J. Morgenroth* und *R. Bieling* haben bei Festigungsversuchen mit Gasbrandbacillen gegen Isoctylhydrocuprein beobachten können, daß die auf alkaloidhaltigen Nährböden gewachsenen Stämme unter Umständen nicht nur keine Festigung, sondern im Gegenteil eher noch eine erhöhte Empfindlichkeit gegen das Alkaloid zeigten. Ich selbst konnte gelegentlich der Ausarbeitung eines Verfahrens zur quantitativen Bestimmung verschiedener Substanzen auf biologischem Wege feststellen, daß die in verschieden konzentrierten Optochinlösungen verschieden lange stehengelassene Pneumokokkenkulturen ein differentes Verhalten gegen Optochin zeigten, vom Zustande erhöhter bis zu demjenigen herabgesetzter Empfindlichkeit.

Während von den bisher erwähnten Befunden einzelne zweifellos mit dem Phänomen der Überempfindlichkeit nichts zu tun haben, wie dies auf Grund eigener Versuche gezeigt werden soll, andere aber nicht mit Sicherheit ihre Zugehörigkeit zu der Erscheinung der Überempfindlichkeit erkennen lassen und von den genannten Autoren zumindest nicht als solche beschrieben wurden, kommt den in neuester Zeit von *Richet*, *Bachrach* und *Cardot* mitgeteilten Versuchen eine andere Bedeutung zu. Diese Autoren, denen die oben erwähnten Mitteilungen entgangen zu sein scheinen, haben ausschließlich mit Milchsäure-



bacillen gearbeitet und bedienten sich als Indicators des Milchsäurebildungsvermögens dieser Keime. Sie züchteten monatelang Milchsäurebacillen in Nährlösungen mit einem Zusatz von 0,0 g, 0,01, 0,1 und 1 g Thalliumnitrat pro 1 Liter. Wurde dann nach längerer Fortzüchtung aus den verschiedenen Kulturen in ein Nährmedium mit 2 g Thallium pro 1 Liter abgeimpft, dann zeigten die in der Nährlösung mit höherem Giftgehalt fortkultivierten Keime ein höheres, die bei geringem Thalliumgehalt fortgezüchteten ein geringeres Säurebildungsvermögen als die unbehandelten Kulturen; diese sind also gegen Thallium überempfindlich, jene dagegen weniger empfindlich geworden als die unbehandelten Kulturen. Bei Fortzüchtung der Milchsäurebacillen in einer Nährlösung mit 0,0016 g Sublimat pro Liter folgte oft auf ein Stadium der Gewöhnung ein solches der „Überempfindlichkeit". Die Autoren nennen diese Überempfindlichkeit Anaphylaxie, ohne allerdings darauf näher einzugehen, inwieweit jene Kriterien zutreffen, die beim höheren Lebewesen den Zustand der Anaphylaxie charakterisieren.

Meine Versuche entsprangen folgenden Erwägungen:

Wenn es überhaupt möglich ist, Bakterien gegen wirksame Substanzen überempfindlich zu machen, so müßte in Berücksichtigung der relativ kurzen Lebensdauer der Bakterien diese Erscheinung schon bei der gewöhnlichen Eintagskultur nachweisbar sein. Diese Annahme erschien um so plausibler, als ja nach den Untersuchungen von *Ehrlich*, *Morgenroth* und von *Shiga* bekannt ist, daß die Giftgewöhnung oder Festigung von Bakterien und Protozoen schon nach wenigen Stunden stattfinden kann. Unter diesen Umständen konnte — bei der vermutlich engen Beziehung zwischen Gewöhnung und Überempfindlichkeit — angenommen werden, daß durch das längere Fortzüchten der Bakterien in gifthaltigen Nährlösungen eine etwa vorhandene Überempfindlichkeit unter Umständen verschleiert werden könnte. Auch involviert die länger fortgesetzte Kultivierung eine Reihe von Fehlerquellen, bedingt vor allem durch die Schwierigkeit des Arbeitens mit einem dauernd gleichmäßig beschaffenen Nährboden; und daß Resistenzunterschiede der Bakterien schon durch Nährbodenwechsel allein bedingt sein können, ist eine in der Desinfektionslehre bekannte Erscheinung. Aus genannten Gründen schien es zweckmäßig, mit einem Verfahren zu arbeiten, welches gestatten würde, einen etwa vorhandenen Überempfindlichkeitszustand binnen ganz kurzer Zeit, in Minuten oder Stunden unter Ausschaltung der sonst üblichen Kulturmethoden festzustellen. Das von mir zur Bestimmung wirksamer Substanzen in dünnen Lösungen angewandte und an anderer Stelle beschriebene Methylenblauverfahren wurde zu diesem Zwecke herangezogen.

Bekanntlich besitzen Bakterien sowohl in flüssigen Kulturen als auch in Aufschwemmungen vom festen Nährboden die Fähigkeit,



Methylenblau, Lackmus, Neutralrot besonders, leicht aber den erstgenannten Farbstoff in eine farblose Verbindung umzuwandeln. Die näheren Bedingungen dieses im wesentlichen als Reduktion sich darbietenden Entfärbungsvorganges wurden an genannter Stelle ausführlicher besprochen. Unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ist der Entfärbungsvorgang hinsichtlich seiner Intensität und Raschheit von der Vitalität einer Kultur und der Keimzahl abhängig. Hinzugefügt sei hier, daß, wie die inzwischen fortgesetzten Versuche ergeben haben, die Reaktion des Mediums, d. h. die Wasserstoffionenkonzentration desselben für den Reduktionsprozeß von Bedeutung ist: je kleiner die p_H-Zahl ist, d. h. je saurer das Medium ist, desto ungünstiger gestaltet sich der Entfärbungsvorgang. Erhöhung des Alkalitätsgrades begünstigt bis zu einem gewissen Maximum die Entfärbung. Die Grenz-p_H-Zahlen variieren je nach der Kultur. Damit hängt es z. B. zusammen, daß, wie an zitierter Stelle ausgeführt wurde, die in traubenzuckerhaltiger Bouillon gewachsenen Pneumokokken ihr Reduktionsvermögen einbüßen, obzwar Traubenzucker als solcher das Reduktionsvermögen verschiedener Bakterien fördert; die Spaltung des Traubenzuckers durch Pneumokokken und die damit verbundene Steigerung der Wasserstoffionenkonzentration des Mediums beeinträchtigt den Entfärbungsvorgang oder hebt ihn vollkommen auf.

Den großen Vorteilen, die sich bei der Anwendung des Methylenblaus unter anderen aus seiner ziemlich leichten Entfärbbarkeit und seiner allgemeinen Anwendbarkeit ergeben, steht ein Nachteil gegenüber; das ist die ebenso leichte Verküpbarkeit dieses Farbstoffes: durch Sauerstoffzutritt oder durch plötzlichen Temperaturwechsel kann die bereits entfärbte Kulturflüssigkeit ihren ursprünglichen blauen Farbton annehmen und so die Ablesung stören. Den Sauerstoffzutritt verhindert man durch Paraffinabschluß; man muß ferner darauf achten, daß die angewendete Kultur vor der Überschichtung mit Paraffinöl nicht zu sehr geschüttelt wird, wodurch eine relative Sättigung mit Sauerstoff und eine Verzögerung der Reduktion im Vergleich mit etwa ungeschüttelten Kontrollen herbeigeführt werden könnte. Zur Vermeidung eines plötzlichen Temperaturwechsels, wie er bei Entnahme der Versuchsröhrchen aus der Brutkammer bzw. Brutschrank zustande kommt, ist es notwendig, die Ablesung in der Brutkammer selbst oder, wo eine solche nicht zur Verfügung steht, durch Beobachtung des mit Glastüren versehenen und beleuchteten Brutschranks vorzunehmen; die Beleuchtung kann man durch eine im Brutschrank angebrachte und nach Bedarf einschaltbare elektrische Birne oder durch eine künstliche Lichtquelle von außen bewerkstelligen.

Die Versuchsanordnung lief im allgemeinen darauf hinaus, den Empfindlichkeitsgrad der in verschiedenen Konzentrationen einer wirk-



samen Substanz gewachsenen Kulturen desselben Ausgangsstammes der angewandten Substanz gegenüber festzustellen. Dies geschah durch Bestimmung jener Konzentration der wirksamen Substanz, die eine bestimmte Kulturmenge an der Entfärbung einer abgemessenen Methylenblaumenge verhindert. Als Vergleichsstandard diente der Empfindlichkeitsgrad der unvorbehandelten Kultur desselben Ausgangsstammes. Die in Versuchen bestimmte Kulturmenge, die nach einer willkürlich gewählten Zeit, in der Regel nach zwei Stunden, einen Tropfen Methylenblaulösung entfärbte, gestattete es, die Versuchsbedingungen für die verschiedenen Kulturen desselben Ausgangsstammes gleichmäßig zu gestalten. Auch darin liegt ein großer Vorteil des Methylenblauverfahrens. Als einzige Variable blieb dann die in den Hauptversuchen festzustellende, den Grad der Empfindlichkeit wiedergebende, eben noch wirksame Konzentration einer Substanz.

Die Versuche wurden bisher mit verschiedenen Bakterien ausgeführt. In vorliegender Mitteilung soll über die mit Pneumokokken, Staphylokokken, Coli- und Dysenteriebacillen erhaltenen Resultate berichtet werden. Als wirksame Substanzen wurden Optochin, Chinin, Sublimat, Formaldehyd, Phenol und Argentum nitricum herangezogen.

I. Pneumokokken.

1. Versuch:

Von acht Reagensgläsern mit je 10 ccm steriler, 10proz. Pferdeserumbouillon werden sieben mit Optochinum hydrochloricum im Verhältnis 1: 100 000, 1: 500 000 1: 1 Million, 1: 2 Millionen, 1: 5 Millionen, 1: 10 Millionen, 1: 20 Millionen versetzt und ebenso wie das optochinfreie Röhrchen aus einer 24stündigen Serumbouillonkultur des vor 2 Tagen aus einem Pleuraempyem gezüchteten Pneumokokkenstammes L beimpft. Die gewünschten Konzentrationen wurden in der Weise erreicht, daß das Optochin zuerst in Kochsalzlösung im Verhältnis 1: 100, 1: 1000 usw. aufgelöst und dann zu den verschiedenen Serumbouillonröhrchen die zur Erzielung der beabsichtigten Konzentration notwendige Optochinmenge hinzugefügt wurde; also resultierte durch Zusatz von 0,1 ccm der Lösung 1: 1000 eine Verdünnung 1: 100 000. Nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° C zeigen sämtliche Röhrchen bis auf jenes mit der Optochinkonzentration 1: 100 000 (= L 100 000) eine diffuse Trübung, die sich von derjenigen der Kontrolle ohne Optochin nicht unterscheidet; ja, das Röhrchen mit der relativ hohen Optochinkonzentration 1: 500 000 scheint sogar stärker getrübt als die anderen. Von sämtlichen gewachsenen Kulturen werden nun Vorversuche zur Feststellung der Kulturmenge, die nach 2 Stunden einen Tropfen Methylenblaulösung zu entfärben vermag, angesetzt. Parallelreihen mit fallenden Mengen Kultur, 1 ccm, 0,5 ccm, 0,2 ccm mit steriler Serumbouillon auf 1 ccm Gesamtvolumen ergänzt, mit je einem Tropfen [von der an anderer Stelle[1]) angegebenen] Methylenblaulösung gemischt und mit je 1 ccm Paraffinöl überschichtet, werden in den Brutkasten gestellt und während 2 Stunden beobachtet. Die Ablesung ergibt:

[1]) l. c.



a) nach 1 Stunde:

L 500 000[1]):	alle drei Röhrchen sind blau.	
L 1 Million:	1. und 2. Röhrchen entfärbt,	3. blau.
L 2 Millionen:	1. „ 2. „ „	3. „
L 5 „	1. „ 2. „ „	3. „
L 10 „	1. „ 2. „ „	3. „
L 20 „	1. „ 2. „ „	3. „
L θ (o. Optochin)	1. „ 2. „ „	3. „

b) nach 2 Stunden:

L 500 000:	alle drei Röhrchen sind blau.	
L 1 Million:	1. und 2. Röhrchen entfärbt,	3. fast entfärbt.
L 2 Millionen:	1. „ 2. „ „	3. „ „
L 5 „	1. „ 2. „ „	3. „ „
L 10 „	1. „ 2. „ „	3. „ „
L 20 „	1. „ 2. „ „	3. „ „
L θ „	1. „ 2. „ „	3. „ „

Von den zum Vorversuch herangezogenen Kulturen vermögen alle mit Ausnahme der bei einer Optochinkonzentration 1 : 500 000 gewachsenen, Methylenblau zu entfärben, und zwar beträgt die kleinste reduzierende Menge nach 2 Stunden bei allen 0,2 ccm Kultur. Das auffallende Verhalten der Kultur L 500 000, das uns noch weiter unten beschäftigen wird, hängt allem Anschein nach mit der durch die hohe Optochinkonzentration erfolgten Schädigung der Keime zusammen.

Der Hauptversuch wird in der Weise durchgeführt, daß in Parallelreihen fortlaufende Verdünnungen des Optochins in Serumbouillon von 1: 100 000 (1. Röhrchen) bis 1: 6 400 00 (7. Röhrchen) in geometrischer Progression mit dem Quotienten 2, in einem Volumen von 0,5 ccm hergestellt werden, und zwar je eine Reihe für die Kulturen L 1 Million, L 2 Millionen, L 5 Millionen, L 10 Millionen, L 20 Millionen und L θ ; L 500 000 kann zum Versuch nicht genommen werden. Da die Dosis minima reducens (D. m. r.) 0,2 ccm beträgt, in jedem Versuchsröhrchen also soviel Kultur enthalten sein soll, so werden die einzelnen Kulturen $2^1/_2$fach mit steriler Serumbouillon verdünnt und jedes Röhrchen mit 0,5 ccm dieser Kulturverdünnung beschickt; es resultiert eine zweimal schwächere Optochinkonzentration in jedem Röhrchen. Jede Reihe erhält noch je 3 Röhrchen mit derselben Kulturmenge (0,2 ccm in 1 ccm Volumen) ohne Optochin als Kontrollen. Nach Zusatz von 1 Tropfen Methylenblau und Überschichtung mit Paraffinöl werden die Versuchsröhrchen in den Brutkasten (37° C) gestellt und beobachtet. Die Ablesung ergibt:

a) Nach 2 Stunden:

L 1 Million: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. Röhrchen schwach, die Kontrollen vollkommen entfärbt.

L 2 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. fast, die Kontrollen vollkommen entfärbt[2]).

L 5 „ 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. schwach, die Kontrollen vollkommen entfärbt.

L 10 „ 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. und 6. schwach, 7. und die Kontrollen vollkommen entfärbt.

---

[1]) bedeutet die Optochinkonzentration, in der die Kultur gewachsen ist.

[2]) Hinsichtlich der Nomenklatur sei auf die zitierte Arbeit verwiesen.



L 20 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. und 6. fast, 7. und die Kontrollen vollkommen entfärbt.
L θ „ 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. und 6. ziemlich, 7. fast, die 3 Kontrollen vollkommen entfärbt.

Nach 2 Stunden 10′:
L 1 Million: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. und 3 Kontrollen entfärbt.
L 2 Millionen: 1. „ 4. „ „ 5. „ 7. „ 3 „ „
L 5 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. schwach, 7. und die Kontrollen vollkommen entfärbt.
L 10 „ 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. und die Kontrollen entfärbt.
L 20 „ 1. „ 4. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „
L θ „ 1. „ 4. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „

Nach 2 Stunden 25′:
L 1 Million: 1. bis 3. Röhrchen blau, 5. bis 7. und die Kontrollen entfärbt
L 2 Millionen: 1. „ 3. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „
L 5 „ 1. „ 4. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „
L 10 „ 1. „ 3. „ „ 4. „ 7. „ „ „ „
L 20 „ 1. „ 3. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „
L θ „ 1. „ 3. „ „ 5. „ 7. „ „ „ „

Vergleicht man die Ergebnisse der Hauptversuche hinsichtlich der hemmenden Optochinkonzentration miteinander, so fällt es auf, daß die in der mit Optochin im Verhältnis 1:5 Millionen versetzten Serumbouillon gewachsene Pneumokokkenkultur von einer schwächeren Alkaloidverdünnung in der Reduktion des Methylenblaus beeinträchtigt wird als die in stärkeren bezw. schwächeren Konzentrationen oder in der optochinfreien Bouillon gezüchteten Kulturen, und zwar beträgt bei zweistündiger Beobachtung die hemmende Konzentration für L 5 Millionen 1:6 400 000, für die übrigen Kulturen L 1 Million, L 2 Millionen, L 10 Millionen, L 20 Millionen und L θ 1:1 600 000. Nach zwei Stunden 10′ hat sich die Entfärbung in der Reihe L 5 Millionen auch auf das 6. Röhrchen ausgedehnt; die hemmende Alkaloidkonzentration beträgt also jetzt 1:3 200 000, während sie bei den übrigen Versuchsreihen unverändert blieb. Nach weiteren 15 Minuten, also nach insgesamt zwei Stunden 25′ ist die Hemmungsgrenze für L 5 Millionen bei 1:1 600 000, für die übrigen Kulturen bei 1:800 000. Da die Versuchsbedingungen für die einzelnen Versuchsreihen gleich sind, so ist aus dem Vergleich der hemmenden Konzentrationen zu schließen, daß die bei der Optochinverdünnung 1:5 Millionen gewachsene Kultur (L 5 Millionen) auf das Optochin anders als die übrigen Kulturen desselben Ausgangsstammes reagiert; sie zeigt einen im Vergleich zur Norm (Kultur in optochinfreier Bouillon) oder im Vergleich mit den anderen Kulturen erhöhten Empfindlichkeitsgrad gegen das angewandte Alkaloid; sie ist also überempfindlich geworden.

Die Erscheinung der allmählichen Ausdehnung des Entfärbungsvorganges von den Röhrchen mit geringerem auf jene mit höherem Optochingehalt hängt mit dem Umstande zusammen, daß die relativ

schwachen Konzentrationen des Optochins nicht abtötend, sondern nur entwicklungshemmend wirken. „Sehr dünne Lösungen zellschädigender Substanzen vermögen den Reduktionsvorgang nur zu verzögern, während erst Konzentrationen, die das Leben der Zellen dauernd schädigen und bei Bakterien das Wachstum verhindern, die Entfärbung des Methylenblaus gänzlich unmöglich machen.“ (Vgl. Bioch. Zeitschr. Bd. 122, S. 296.) Während die zu gleicher Zeit vorgenommenen Abimpfungen aus den Versuchsröhrchen mit so dünnen Optochinlösungen positive Ergebnisse zeitigten, ja sogar Alkaloidkonzentrationen 1 : 50 000 bis 1 :10 000 nach zwei Stunden keine durch Kulturpassage nachweisbare Abtötung herbeiführten, war es bei dem hier angewandten Bestimmungsverfahren, welches die Empfindlichkeitszone in weiteren Grenzen anzeigt, möglich, auch die Wirkung derart schwacher Konzentrationen und dadurch die verschiedene Empfindlichkeit der Kulturen nachzuweisen. Auf das Wesen der Entwicklungshemmung soll hier nicht näher eingegangen werden. Bemerkt sei nur, daß, wie aus noch anzuführenden Versuchen wird geschlossen werden können und wie schon zum Teil aus den Versuchen von *Shiga* hervorgeht, hier Beziehungen zwischen der als Entwicklungshemmung gedeuteten Erscheinung und dem Phänomen der Abnahme der Empfindlichkeit von Bakterien gegen giftige Substanzen im Verlaufe weniger Stunden bestehen.

2. Versuch:

6 Serumbouillonröhrchen mit fallenden Optochinkonzentrationen 1 : 6000, 1 : 60 000, 1 : 600 000, 1 : 6 Millionen, 1 : 60 Millionen und 1 : 600 Millionen und ein Serumbouillonröhrchen ohne Optochin werden mit je einer Öse einer 24stündigen Serumbouillonkultur eines vor 3 Tagen aus einem Eiter gezüchteten Pneumokokkenstammes „B“ beimpft und in den Brutschrank gestellt. Nach 24 Stunden erscheinen die Röhrchen mit einem Optochingehalt 1 : 6000 und 1 : 60 000 (B 6000 und B 60 000) klar, die übrigen (B 600 000, B 6 Millionen, B 60 Millionen, B 600 Millionen und B θ) gleich gut getrübt. Nachdem die mikroskopische Untersuchung aller Röhrchen ergeben hat, daß es sich um Reinkulturen handelt, werden die Vorversuche angestellt, und zwar werden von allen Kulturen fallende Mengen von 1 ccm, 0,8 ccm, 0,6 ccm, 0,4 ccm, 0,2 ccm und 0,1 ccm mit Serumbouillon auf das Gesamtvolumen von 1 ccm gebracht, mit 1 Tropfen Methylenblau gemischt, mit Paraffinöl überschichtet und in den Brutschrank (37° C) gestellt. Die Beobachtung der Reduktionsvorganges ergibt:

Nach 1 Stunde:

B 600 000: bis 0,4 ccm vollkommen, 0,2 ccm in Spuren entfärbt, 0,1 ccm blau.
B 6 Millionen: bis 0,6 ccm entfärbt, 0,4 ccm usw. blau.
B 60 Millionen: bis 0,6 ccm entfärbt, 0,4 ccm schwach entfärbt, 0,3 ccm usw. blau.
B 600 Millionen: wie L 60 Millionen.
B θ (ohne Optochin) bis 0,6 ccm entfärbt, 0,4 ccm und die anderen blau.

Nach 2 Stunden:

B 600 000: bis 0,2 ccm entfärbt, 0,1 ccm blau.
B 6 Millionen: bis 0,4 ccm entfärbt, 0,2 ccm und 0,1 ccm blau.
B 60 Millionen: bis 0,4 ccm vollkommen, 0,2 ccm in Spuren entfärbt und 0,1 ccm blau.
B 600 Millionen: wie B 60 Millionen.
B θ bis 0,4 ccm entfärbt, sonst blau.



Zum Hauptversuch werden entsprechend dem Ausfall der Vorversuche die Kulturen B 6 Millionen, B 60 Millionen, B 600 Millionen und B θ $1^1/_2$ fach verdünnt, so daß nach dem Zusammenbringen von $^1/_2$ ccm Kulturverdünnung mit den im halben Kubikzentimeter enthaltenen fallenden Optochinkonzentrationen 1:100 000 (1. Röhrchen) bis 1:6 400 000 (7. Röhrchen) die bezügliche kleinste reduzierende Kulturmenge enthalten ist (0,2 ccm bei B 600 00 und 0,4 ccm bei den übrigen). Im übrigen ist die Versuchsanordnung dieselbe wie bei Versuch 1. Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

B 600 000: *Sämtliche Röhrchen sind vollkommen entfärbt.*
B 6 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
B 60 Millionen: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. schwach und die Kontrollen vollkommen entfärbt.
B 600 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. und 7. mäßig, Kontrollen vollkommen entfärbt.
B θ 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. und 7. mäßig, Kontrollen vollkommen entfärbt.

Nach 2 Stunden 10′:

B 600 000: wie oben.
B 6 Millionen: 1. bis 6. Röhrchen blau, und die Kontrollen entfärbt.
B 60 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. schwach, 6. und 7. und Kontrollen ganz entfärbt.
B 600 Millionen: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 7. und Kontrollen entfärbt.
B θ: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 7. und Kontrollen entfärbt.

Nach 2 Stunden 30′:

B 600 000: wie oben.
B 6 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. und 7. und Kontrollen entfärbt.
B 60 Millionen: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. in Spuren, 5. schwach, 6. und 7. und Kontrollen entfärbt.
B 600 Millionen: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 7. und Kontrollen entfärbt.
B θ: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 7. und Kontrollen entfärbt.

Das Ergebnis des zweiten Versuches entspricht also im wesentlichen demjenigen des ersten, indem auch hier die in der relativ dünneren Optochinkonzentration von 1:6 Millionen gewachsene Kultur einen höheren Empfindlichkeitsgrad gegenüber dem Alkaloid aufweist als die Kontrollkultur (ohne Optochin) oder die in den Konzentrationen 1:60 bezw. 1:600 Millionen gewachsenen. Dagegen hebt sich die Kultur B 600 000 wesentlich dadurch von den anderen ab, daß sie nicht einmal durch die Optochinverdünnung 1:200 000 in ihrem Reduktionsvermögen gehemmt wird, während die hemmende Konzentration für die Kontrolle und für B 600 Millionen nach zwei Stunden 1:3 200 000 und für B 6 Millionen 1:12 800 000 ist. B 600 000 ist also weniger empfindlich geworden, was man als Festigungserscheinung auffassen darf. Hingewiesen sei noch ferner auf die höhere Reduktionsfähigkeit Methylenblau gegenüber bei der in der höchsten Optochinkonzentration gewachsenen Kultur B 600 000. An der erhöhten Reduktionsfähigkeit der Kultur kann sowohl eine reichlichere Keimentwicklung als auch eine erhöhte Vitalität der Keime beteiligt sein. Die üppigere Keimentwickelung läßt sich auch tatsächlich durch Keimzählung feststellen.



Dagegen entzieht sich die Frage einer eventuell erhöhten Vitalität der Beurteilung.

Die letzterwähnte Erscheinung, daß an der Grenze gegen die wachstumshemmende Giftkonzentration eine solche feststellbar ist, die ein üppigeres Wachstum berheiführt, erinnert an den schon längst bekannten Verdichtungswall bei der „oligodynamischen" Versuchsanordnung, wo bekanntlich auf der mit einem wirksamen Metallstück beschickten und beimpften Agarplatte zwischen der Entwicklungshemmungszone und jener normalen Wachstums eine Zone besonders stark und zahlreich entwickelter Kolonien zu finden ist. Das Phänomen, das sich gut in das *Arndt-Schulz*sche Gesetz über die anregende Wirkung kleinerer Reize einfügen läßt, besitzt besonderes Interesse mit Rücksicht auf die in der letzten Zeit in der Literatur aufgetauchten Differenzen in der Deutung der Wachstumsverdichtungszone um Metallstücke herum. *Cobet* und *van der Reis* glauben aus ihren Versuchen schließen zu können, daß der Randwulst nicht etwa auf den Reiz einer bestimmten Giftkonzentration, sondern auf eine „Wachstumsbegünstigung infolge reichlicheren Nährstoffangebotes" (an der Grenze gegen die wachstumsfreie Zone) zurückzuführen ist. Diese Auffassung steht aber im Widerspruch mit vielen längst bekannten Versuchsergebnissen, besonders den zuletzt von *Seiffert* mitgeteilten. Während aber bei Versuchen auf festen Nährböden an eine „Wachstumsbegünstigung infolge reichlicheren Nährstoffangebotes" in zweiter Linie noch gedacht werden könnte, ist bei der von mir hier angeführten Versuchsanordnung im flüssigen Nährmedium eine derartige Deutung ganz unbegründet.

3. Versuch:

Von einer 24stündigen Serumbouillonkultur des vor 4 Tagen aus einem Lumbalpunktat gezüchteten Pneumokokkenstammes „R" werden Abimpfungen in Serumbouillonröhrchen à 10 ccm Inhalt ohne bzw. mit einem Zusatz von Optochin. hydrochl. im Verhältnis 1: 100 000, 1: 200 000, 1: 500 000, 1: 1 Million, 1: 5 Millionen, 1: 10 Millionen, 1 : 50 Millionen, 1: 100 Millionen und 1: 200 Millionen vorgenommen. Nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° C erscheinen die Kulturen mit einem Optochingehalt 1: 500 000 und weniger, ebenso wie die ohne Optochin gleichmäßig getrübt; im Röhrchen mit Optochin 1 200 000 findet sich ein geringer, körniger Bodensatz, jenes mit 1: 100 000 Optochin ist vollkommen klar. Die mikroskopische Untersuchung der Kulturen ergibt: im Sediment von R 200 000 grampositive kugelige Gebilde und vereinzelte Diplokokken, in den Kulturen von R 500 000 und R 1 Million finden sich reichlich Ketten von 4—8 Gliedern neben Diplokokken, in den übrigen Kulturen durchwegs Diplokokken. Da der untersuchte Stamm nach vorausgegangenen orientierenden Versuchen ein relativ stärkeres Reduktionsvermögen besitzt, werden die Vorversuche so angestellt, daß von den 5fach mit Serumbouillon verdünnten Kulturen fallende Mengen, und zwar 1 ccm, 0,8, 0,6, 0,4 und 0,2 ccm mit Serumbouillon auf 1 ccm ergänzt und in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt werden. Die Ablesung ergibt nach 2 Stunden:



R 500 000: 1 ccm und 0,8 ccm entfärbt, 0,6 fast und 0,4 ziemlich stark entfärbt, 0,2 ccm blau.
R 1 Million: 1 ccm und 0,8 ccm entfärbt, 0,6 und 0,4 ccm fast entfärbt, 0,2 ccm blau.
R 5 Millionen: wie R 1 Million.
R 10 Millionen: wie R 1 Million.
R 50 Millionen: 1 ccm und 0,8 ccm entfärbt, 0,6 und 0,4 ccm fast, 0,2 ccm in Spuren entfärbt.
R 100 Millionen: wie R 1 Million.
R 200 Millionen: wie R 1 Million.
R θ (ohne Optochin): wie R 1 Million.

Hauptversuch:

Dem Ausfall der Vorversuche entsprechend wird nun für den Hauptversuch von R 500 000 0,4 ccm und von den übrigen 0,35 ccm der 5fachen Verdünnung als Dosis minima reducens genommen. Das Optochin wird fortlaufend von 1: 200 000 (1. Röhrchen) 1: 400 000 bis 1: 25 600 000 (8. Röhrchen) verdünnt. Je 3 optochinfreie Kontrollen von jeder Kultur vervollständigen die acht parallelen Versuchsreihen. Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

R 500 000: 1. *bis* 5. *Röhrchen* blau, 6. und 8. in Spuren, die Kontrollen vollkommen entfärbt.
R 1 Million: 1. *Röhrchen* blau, 2. bis 8. und die Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
R 5 Millionen: 1. *bis* 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 10 Millionen: 1. *bis* 8. Röhrchen blau, Kontrollen fast entfärbt.
R 50 Millionen: 1. *bis* 8. Röhrchen blau, Kontrollen fast entfärbt.
R 100 Millionen: 1. *bis* 7. Röhrchen blau, 8. mäßig, Kontrollen entfärbt.
R 200 Millionen: 1. *bis* 7. Röhrchen blau, 8. mäßig, Kontrollen entfärbt.
R θ: 1. *bis* 6. Röhrchen blau, 7. schwach, 8. und Kontrollen ganz entfärbt.

Nach 2 Stunden 10 Min.:

R 500 000: 1. *bis* 3. Röhrchen blau, 4. und 5. in Spuren, 6. bis 8. und Kontrollen entfärbt.
R 1 Million: 1. Röhrchen blau, 2. bis 8. und Kontrollen entfärbt.
R 5 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 10 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 50 Millionen; 1. bis 8. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
R 100 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
R 200 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
R θ: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und 8. und Kontrollen entfärbt.

Nach 2 Stunden 30 Minuten.

R 500 000: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen entfärbt.
R 1 Million: 1. Röhrchen blau, die übrigen entfärbt.
R 5 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 10 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 50 Millionen: 1. bis 8. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
R 100 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen entfärbt.
R 200 Millionen: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. schwach, 8. und Kontrollen entfärbt.
R θ: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und 8. und Kontrollen entfärbt.

Vergleicht man die hemmenden Alkaloidkonzentrationen der in verschiedenen Optochinverdünnungen gewachsenen Kulturen des dritten



Versuches miteinander, so konstatiert man zuerst, daß die in den mit Optochin im Verhältnis 1:10 und 1:50 Millionen versetzten Serumbouillonröhrchen gewachsenen Kulturen eine im Vergleich mit der Kontrollkultur R θ erhöhte Empfindlichkeit gegenüber dem angewandten Alkaloid aufweisen. Während nämlich die in optochinfreier Bouillon gezüchtete Kultur vom Optochin nach zwei Stunden in einer Verdünnung 1:6 400 000 in der Entfärbung des Methylenblaus behindert wird, ist dies bei den Kulturen R 10 Millionen und R 50 Millionen noch bei einem Optochingehalt von mindestens 1:25 600 000 der Fall; ob die Hemmungsgrenze nicht noch weiter außen liegt, ist aus dem Versuche nicht zu ersehen, da das Optochin nicht weiter verdünnt wurde. Bei weiterer Beobachtung verschiebt sich die hemmende Grenzkonzentration für R 10 Millionen bis zu 1:1 280 000 nach zwei Stunden 10 Min. und beträgt ebensoviel nach zwei Stunden 30 Min.; für R 50 Millionen und R θ ändert sie sich zu gleicher Zeit nicht. Dagegen erweist sich die Kultur R 1 Million viel weniger empfindlich als die Kontrollkultur, und zwar beträgt die hemmende Optochinkonzentration während der ganzen Beobachtungsdauer 1:200 000; hier liegt wohl eine Festigung der bei einem Optochingehalt 1:1 Million gewachsenen Kultur vor. Die Kultur R 500 000 ist im Vergleich mit R 1 Million viel empfindlicher gegen das Alkaloid. Allerdings ist ihre Empfindlichkeit eine bedeutend geringere als diejenige der Kontrollkultur. Die reduktionshindernde Alkaloidverdünnung bei R 500 000 beträgt nämlich nach zwei Stunden 1:3 200 000, nach weiteren 10 Minuten 1:800 000 und nach zwei Stunden 30 Minuten 1:400 000. Es handelt sich hier offenbar um eine Interferenzerscheinung zwischen der festigenden und der resistenzvermindernden Eigenschaft der höchsten Giftkonzentration. Denn einerseits läßt sich zeigen, daß diese relative Überempfindlichkeit der in den höchsten Konzentrationen gewachsenen Keime gar keine Spezifität besitzt, wie das aus den nächsten Versuchen zu ersehen sein wird; andererseits gelingt es, die Festigung zum Ausdruck zu bringen, wenn man die Kultur durch eine Zwischenpassage in giftfreier Bouillon sich erholen läßt und dann untersucht. Für die Annahme, daß bei R 500 000 eine unspezifische Resistenzverminderung vorliegt, spricht noch die Tatsache, daß, wie aus dem Vorversuch hervorgeht, die Reduktionskraft dieser Kultur eine geringere ist als bei den übrigen. Daß der Befund nicht etwa ein zufälliger ist, folgt aus seiner häufigen, wenn auch nicht konstanten Wiederkehr.

Stellt man das Ergebnis des dritten Versuches demjenigen des ersten und zweiten gegenüber, so fällt außer der im dritten Versuche feststellbaren Zone der durch die Resistenzverminderung bedingten unspezifischen Überempfindlichkeit bei R 500 000 noch die Erscheinung auf, daß die als spezifisch zu kennzeichnende Überempfindlich-

keit (s. w. u.) der Kulturen R 10 Millionen und R 50 Millionen bei so tiefen Alkaloidkonzentrationen gelegen ist. Worauf das zurückzuführen ist, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden. Vermutlich besteht ein Zusammenhang mit der relativ hohen Optochinempfindlichkeit der Kontrollkultur, die ja noch durch eine Alkaloidverdünnung 1 : 6 400 000 in ihrem Reduktionsvermögen behindert wird. Parallel damit verläuft die Verschiebung der festigenden Optochinverdünnung nach rechts in der Konzentrationsreihe.

Nebenbei sei noch auf die morphologischen Abweichungen der in den Röhrchen mit dem Optochingehalt 1 : 200 000, 1 : 500 000 und 1 : 1 Million gewachsenen Kulturen hingewiesen. Die Erscheinung steht im Einklang mit der schon bekannten Erfahrung, daß die Giftgewöhnung mit einer Änderung der kulturell-biologischen Merkmale einhergehen kann. Daß die kugeligen Gebilde in R 200 000 nicht verunreinigende fremde Keime sind, ergibt die weitere Passage in Serumbouillon und auf der Blutplatte.

Für die Deutung der bisher mitgeteilten Befunde, besonders aber für die Frage, inwieweit die sich als Überempfindlichkeit darbietende Erscheinung wirklich als solche aufgefaßt werden darf, besaß die Feststellung des Spezifitätsgrades eine ausschlaggebende Bedeutung. Es mußte also bestimmt werden, ob die Überempfindlichkeit, die durch Vorbehandlung mit einer bestimmten Substanz herbeigeführt wurde, nur der letzteren gegenüber oder verschiedenen anderen gegenüber zum Ausdruck kommt. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch angestellt:

4. Versuch:

Von einer 24stündigen Serumbouillonkultur des Pneumokokkenstammes „Cop." werden Serumbouillonröhrchen von gleichem Inhalt mit einem Optochingehalt von 1 : 100 000, 1 : 300 000, 1 : 500 000, 1 : 1 Million, 1 : 3 Millionen, 1 : 30 Millionen und 1 : 300 Millionen und einige Röhrchen ohne Alkaloid beimpft. Nach 24stündiger Bebrütung erscheint das Röhrchen Cop. 100 000 klar, Cop. 300 000 mäßig stark getrübt, alle übrigen ziemlich gleichmäßig gut getrübt. Die Vorversuche werden mit je 1 ccm, 0,8 ccm, 0,5 ccm, 0,4 ccm und 0,2 ccm angesetzt. Die Ablesung nach 2 Stunden ergibt:

Cop. 300 000: bis 0,5 ccm entfärbt, 0,4 ccm mäßig entfärbt, bei allen übrigen bis 0,4 ccm vollkommen entfärbt.

Die Hauptversuche werden mit je 0,4 ccm Kultur als Gebrauchsdosis (D. m. red.) in drei Parallelserien mit Optochin a) Chinin b) und Phenol c) ausgefärbt.

a) Hauptversuch mit Optochin, welches fortlaufend von 1 : 200 000 bis 1 : 12 800 000 in 7 Röhrchen verdünnt wird; je 3 Kontrollen ohne Optochin pro Reihe; Methylenblau, Paraffinöl, Brutschrank.

Ablesung nach 2 Stunden:

Cop. 300 000: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.

Cop. 500 000: sämtliche Röhrchen mehr oder weniger entfärbt.

Cop. 1 Million: sämtliche Röhrchen mehr oder weniger entfärbt.



Cop. 3 Millionen: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und Kontrollen fast entfärbt.
Cop. 30 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
Cop. 300 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. Röhrchen und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
Cop. θ: wie Cop. 300 Millionen.

Nach 2 Stunden 10 Minuten:

Cop. 300 000: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 7. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
Cop. 500 000: alles entfärbt.
Cop. 1 Million: alles entfärbt.
Cop. 3 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbt.
Cop. 30 Millionen: 1. bis 6. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbte.
Cop. 300 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbt.
Cop. θ: wie Cop. 300 Millionen.

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

Cop. 300 000: 1. bis 2. Röhrchen blau, sonst entfärbt.
Cop. 500 000: entfärbt.
Cop. 1 Million: entfärbt.

Cop. 3	Millionen:	1. bis	4.	Röhrchen	blau,	sonst	entfärbt.
Cop. 30	,,	1. ,,	5.	,,	,,	,,	,,
Cop. 300	,,	1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,
Cop. θ		1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,

Die Empfindlichkeitsreihe der in verschiedenen Optochinverdünnungen gewachsenen Kulturen des Pneumokokkenstammes „Cop.“ läßt also, wie aus dem ersten Hauptversuch zu ersehen ist, zwei bzw. drei Stufen gegenüber der Norm erkennen: eine erhöhte Empfindlichkeit der in den Alkaloidverdünnungen 1:3 und 1:30 Millionen gewachsenen Kulturen und eine stark herabgesetzte der Kulturen Cop. 500 000 und Cop. 1 Million. Die Kultur Cop. 300 000 zeigt gegenüber der in optochinfreier Bouillon gezüchteten Kultur Cop. θ eine herabgesetzte, im Vergleich mit den Kulturen Cop. 500 000 und Cop. 1 Million aber eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Optochin.

b) Hauptversuch mit Chinin in fortlaufender Verdünnung[1]) 1: 30 000, 1: 60 000, 1: 120 000, 1: 240 000 und 1: 480 000 (1. bis 5. Röhrchen); die gleiche Gebrauchsdosis von den Kulturen wie beim Hauptversuch a).

Ablesung nach 2 Stunden:

Cop. 300 000:	1. bis	4.	Röhrchen	blau,	sonst	entfärbt.	
Cop. 500 000:	1. ,,	3.	,,	,,	,,	,,	
Cop. 1 Million:	1. ,,	3.	,,	,,	,,	,,	
Cop. 3 ,,	1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,	
Cop. 30 ,,	1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,	
Cop. 300 ,,	1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,	
Cop. θ	1. ,,	4.	,,	,,	,,	,,	

[1]) Auf die Herstellung äquimolekularer Verdünnungen der zu vergleichenden Substanzen wurde verzichtet, da das verschiedene Verhalten der in den verschieden konzentrierten toxischen Medien gewachsenen Kulturen bzw. der unbehandelten Kultur innerhalb jeder mit einer bestimmten Substanz angesetzten Versuchsreihe genügenden Aufschluß über die etwa nachweisbare Spezifität geben konnte.



Nach 2 Stunden 10 Minuten:

Cop. 300 000:	1. bis 4.	Röhrchen	blau,	sonst	entfärbt.
Cop. 500 000:	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. 1 Million:	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. 3 „	1. „ 4.	„	„	„	„
Cop. 30 „	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. 300 „	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. θ	1. „ 3.	„	„	„	„

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

Cop. 300 000:	1. bis 3.	Röhrchen	blau,	sonst	entfärbt
Cop. 500 000:	1. „ 2.	„	„	„	„
Cop. 1 Million:	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. 3 Millionen:	1. „ 4.	„	„	„	„
Cop. 30 „	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. 300 „	1. „ 3.	„	„	„	„
Cop. θ:	1. „ 3.	„	„	„	„

Die in verschiedenen Optochinkonzentrationen gewachsenen Pneumokokkenkulturen verhalten sich also dem Chinin gegenüber verschieden, und zwar im allgemeinen ziemlich analog dem Verhalten gegen Optochin selbst. Die in der höchsten Optochinkonzentration angegangene Kultur zeigt ebenso wie jene aus der Optochinverdünnung 1:3 Millionen eine aufs doppelte gesteigerte Empfindlichkeit Chinin gegenüber; diese Überempfindlichkeit ist bei Cop. 3 Millionen stärker ausgeprägt als bei Cop. 300 000; Cop. 500 000 zeigt eine geringgradige Festigung gegenüber Chinin. Abweichend ist das Verhalten von Cop. 30 Millionen im Hauptversuch a) (Optochin) und b) (Chinin): Dem Chinin gegenüber ist die Überempfindlichkeit kaum angedeutet, beim Optochin aber stärker ausgebildet als bei Cop. 3 Millionen. Abgesehen von diesem letzterwähnten Unterschied, ist das Verhalten der verschiedenen Kulturen beiden Chinaalkaloiden gegenüber kein prinzipiell verschiedenes, bis auf geringe quantitative Abweichungen, und man könnte geneigt sein anzunehmen, daß die hier zutage tretende Überempfindlichkeit gar nicht spezifisch ist und die Erscheinung nur durch eine unspezifische resistenzvermindernde Wirkung der verschiedenen Konzentrationen toxischer Substanzen, einerseits der ganz hohen, an die das Bakterienwachstum vollkommen verhindernden, angrenzenden, andererseits der ganz dünnen, „oligodynamisch" wirksamen Konzentrationen; dazwischen würden jene mittleren Konzentrationen liegen, die das Wachstum anregen oder festigend wirken. Dem ist aber nicht so! Schon die Tatsache der chemischen Verwandtschaft des Optochins und Chinins, wie auch der Umstand, daß die als überempfindlich erscheinenden in den ganz dünnen Optochinkonzentrationen gewachsenen Kulturen keine herabgesetzten Lebensäußerungen, am Reduktionsvermögen gemessen, aufwiesen, mahnt zur Vorsicht. Eine entscheidende Beantwortung der Frage konnte von einem Versuch mit

einer dem Chinin nicht verwandten toxischen Substanz erwartet werden. Dazu wurde Phenol herangezogen.

c) Hauptversuch mit Phenol:

Die gleichen Kulturen bzw. Gebrauchsdosen derselben wie bei a) und b). Phenol fortlaufend 1: 200, 1: 400, 1: 800, 1: 1600, 1: 3200 und 1: 6400 (1. bis 6. Röhrchen) verdünnt. Sonst wie bei a) und b).

Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

Cop. 300 000:	1. bis 3.	Röhrchen	blau,	sonst	mehr	oder	weniger	entfärbt.
Cop. 500 000:	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„
Cop. 1 Million:	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„
Cop. 3 Millionen:	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„
Cop. 30 Millionen:	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„
Cop. 300 „	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„
Cop. θ:	1. „ 2.	„	„	„	„	„	„	„

Nach 2 Stunden 10 Minuten und nach 2 Stunden 20 Minuten dasselbe.

Wie aus obigem Versuche zu ersehen ist, zeigen nur die in den höchsten Optochinkonzentrationen gezüchteten Pneumokokkenkulturen eine höhere Empfindlichkeit gegen Phenol als die Kontrollkultur. Alle übrigen Kulturen verhalten sich dem Phenol gegenüber gleich, und zwar so wie die Kontrollkultur. Insbesondere vermißt man die Überempfindlichkeitsstufe der Kulturen Cop. 3 Millionen und Cop. 30 Millionen, die nur bei Prüfung mit Optochin, also der zur Vorbehandlung verwendeten Substanz, weniger mit dem verwandten Chinin zutage tritt. Bei diesem Sachverhalt darf man wohl die Erscheinung, daß die in den relativ dünneren Konzentrationen des Optochins gezüchteten Kulturen gegen dieses Alkaloid, nicht aber gegen eine andere wirksame Substanz überempfindlich sind, als spezifisch bezeichnen, mit jenen Vorbehalten, die man erfahrungsgemäß auch bei anderen als „spezifisch" gedeuteten Phänomenen zu machen hat. Insbesondere ist es notwendig, eine Reihe anderer Substanzen in dieser Beziehung zu untersuchen. Es wird noch Gelegenheit sein, bei weiter unten noch anzuführenden Versuchen darauf einzugehen.

Wesentlich anders ist aber das Verhalten der in der höchsten Optochinkonzentration gewachsenen Kultur dem Phenol gegenüber aufzufassen. Die dem Optochin gegenüber nachweisbare höhere Empfindlichkeit dieser Kultur (Cop. 300 000) ist auch beim Phenol und auch bei verschiedenen anderen toxischen Substanzen zu sehen. Diese Erscheinung ist also ganz unspezifisch und darf als eine durch die hohe Giftkonzentration zustande gekommene Resistenzverminderung der Kultur angesehen werden. Daß Cop. 500 000 gegen Phenol nicht gefestigt erscheint, beweist die Spezifität der Festigung und bedarf keiner Kommentare.

Im Anschluß an den zuletzt beschriebenen vierten Versuch sei das Verhalten der in verschiedenen Optochinkonzentrationen gewachsenen



Kulturen bei der nächsten Passage durch die mit Optochin in fallenden Mengen versetzte Serumbouillon:

Von den zurückgebliebenen, unverdünnten Teilen der zum 4. Versuch verwendeten Kulturen Cop. 300 000, Cop. 500 000, Cop. 30 Millionen und Cop. θ werden in parallelen Reihen Serumbouillonröhrchen — von gleichem Inhalt und mit fallenden Mengen Optochin im Verhältnis 1: 100 000, 1: 300 000, 1: 500 000, 1: 1 Million und 1: 2 Millionen versetzt — beimpft; je ein optochinfreies Bouillonröhrchen wird ebenfalls von jeder Kultur angelegt. Die in den Brutschrank gestellten Röhrchen werden nach 6 und dann nach 20 Stunden beobachtet. Die Ablesung nach 6 Stunden ergibt:

Cop. 300 000: optochinfreie Kontrolle minimal getrübt, die optochinhaltigen Röhrchen klar.

Cop. 500 000: optochinfreie Kontrolle schwach getrübt, Röhrchen mit Optochin 1: 1 Million minimal getrübt, die übrigen klar.

Cop. 30 Millionen: optochinfreie Kontrolle schwach getrübt, die optochinhaltigen Röhrchen klar.

Cop. θ: optochinfreie Kontrolle schwach getrübt, das Röhrchen mit Optochin 1: 1 Million kaum getrübt, die übrigen klar.

Nach 20 Stunden:

Cop. 300 000: Röhrchen mit Optochin 1: 1 Million und die Kontrolle getrübt, die übrigen klar.

Cop. 500 000: Röhrchen mit Optochin 1: 100 000 klar, die übrigen, auch jenes mit Optochin 1: 300 000 getrübt.

Cop. 30 Millionen: Röhrchen mit Optochin 1: 100 000 und 1: 500 000 klar, die übrigen getrübt.

Cop. θ: wie Cop. 30 Millionen.

Der zuletzt angeführte Kulturversuch zeigt, daß für die Beobachtung der Empfindlichkeit der in verschiedenen Konzentrationen einer toxischen Substanz gezüchteten Kulturen desselben Ausgangsstammes die übliche Feststellung des weiteren Wachstums in verschiedenen Konzentrationen derselben Substanz nach 20 oder mehr Stunden nicht ausreichen kann. Besonders trifft dies für die als spezifisch zu bezeichnende Überempfindlichkeit der in relativ dünneren Konzentrationen der toxischen Substanz gezüchteten Kultur — im angeführten Beispiel Cop. 30 Millionen — zu. Wohl ist nach sechsstündiger Bebrütung zu sehen, daß während Cop. θ zu gleicher Zeit außer in der optochinfreien Kontrolle auch in dem Röhrchen mit einem Optochingehalt 1:1 Million eine, wenn auch schwache Trübung zeigt, Cop. 30 Millionen bei gleichem Optochingehalt noch keine makroskopisch wahrnehmbare Vermehrung erfahren hat; nach 20 Stunden aber verwischt sich dieser Unterschied und sowohl Cop. θ als auch Cop. 30 Millionen wachsen in der Optochinverdünnung 1:500 000. Es scheint, als ob die als überempfindlich erkannte Kultur schon in der nächsten Passage im gleichen toxischen Medium noch während des Wachstums eine Änderung erfahren würde. Dafür würde die Tatsache sprechen, daß derartige überempfindliche Keime manchmal bereits in der ersten Passage im toxischen Medium nicht nur nicht mehr überempfindlich



sind, sondern im Gegenteil einen geringen Grad von Giftigkeit erlangt haben, während die im giftfreien Nährmedium gezüchteten Keime ihre Überempfindlichkeit beibehalten können. Vielleicht bildet die Überempfindlichkeit ein Vorstadium der Festigkeit.

Manchmal gelingt es allerdings doch auch durch 24 stündige Kultur die Überempfindlichkeit nachzuweisen. Das gehört zu selteneren Befunden. Aber auch der Nachweis der Überempfindlichkeit durch Prüfung des momentanen Zustandes der Bakterien mittels des Methylenblauverfahrens gelingt nicht mit absoluter Konstanz. So war z. B. bei den mit dem Pneumokokkenstamm „Cop." 25 mal ausgeführten Versuchen nur 15 mal eine deutliche Überempfindlichkeit nachzuweisen. Es mag dies zum Teil an der durch technische Hindernisse beschränkten Zahl der Giftkonzentrationen, die zu einem Versuch genommen werden können, liegen. Es wäre ja denkbar, daß unter gegebenen Versuchsbedingungen nur bestimmte Konzentrationen der toxischen Substanz eine Überempfindlichkeit erzeugen können und zwar jene, die zur Erzeugung einer Giftfestigkeit noch nicht ausreichen oder deren überempfindlichmachender Effekt durch die Erscheinung der Giftgewöhnung nicht vollkommen kompensiert wird. Wahrscheinlich spielen aber auch noch andere Faktoren eine Rolle. In dieser Beziehung wäre an die Bedeutung des p_H-Zahl des Nährmediums zu denken, die sich durch den Zusatz der toxischen Substanz allein schon ändern und ganz verschiedene Bedingungen der biologischen Reaktionen der Mikroorganismen schaffen kann, abgesehen von den durch Nährbodenwechsel oder Glasalkali u. dgl. bedingten Versuchsfehlern. Aus diesem Grunde wird es sich empfehlen, mit entsprechend gepufferten Nährlösungen zu arbeiten.

Wesentlich anders verhalten sich im letzten Versuch die Kulturen Cop. 300 000 und Cop. 500 000 bei der Nachkultur im toxischen Medium. Erstere wächst nur noch bei einem Optochingehalt 1:1 Million und erweist sich dadurch als empfindlicher als die unbehandelte Kontrolle. Die Erscheinung entspricht dem auch mit dem Methylenblauverfahren erzielten Ergebnis und ist auf die durch die vorausgegangene Kultur im stark konzentrierten toxischen Milieu zustandegekommene unspezifische Resistenzverminderung zurückzuführen. Cop. 500 000 hat seine schon beim Methylenblauversuch festgestellte Festigung beibehalten.

5. *Versuch.*

Von einer 24stündigen Serumbouillonkultur des vor 4 Tagen aus einer pneumonisch infiltrierten Kaninchenlunge gezüchteten Pneumokokkenstammes „K" werden Serumbouillonröhrchen, die kurz vorher mit *Formaldehyd* im Verhältnis 1:10 000, 1:20 000, 1:40 000, 1:80 000, 1:160 000, 1:320 000 und 1:640 000 versetzt wurden und auch ein formaldehydfreies Bouillonröhrchen beimpft. Nach 24stündiger Bebrütung erscheinen sämtliche Röhrchen mit Ausnahme desjenigen



mit einem Formaldehydgehalt 1: 10 000 gleichmäßig getrübt und erweisen sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Reinkulturen. Die in der gewöhnlichen Weise angesetzten Vorversuche ergeben für alle Kulturen keine Unterschiede hinsichtlich des Reduktionsvermögens Methylenblau, gegenüber, und zwar beträgt die kleinste reduzierende Menge nach 2stündiger Beobachtung 0,2 ccm unverdünnter Kultur. Die Hauptversuche werden in Parallelreihen einerseits mit Formaldehyd, andererseits mit Optochin ausgeführt, und zwar wird ersteres fortlaufend 1000-, 2000- . . . bis 32 000fach (1. bis 6. Röhrchen), das Optochin 100 000-, 200 000- . . . bis 3 200 000fach (ebenfalls 6. Röhrchen) verdünnt. Die entsprechenden Kontrollen ohne Formaldehyd bzw. ohne Optochin ergänzen die Reihen. Die Ablesung ergibt: a) Formaldehydreihen:

Nach 2 Stunden:

K 20 000: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. mäßig, Kontrollen ganz entfärbt.
K 40 000: 1. „ 5. „ „ 6. „ „ „ „
K 80 000: 1. „ 6. „ „ — — „ „ „
K 160 000: 1. „ 6. „ „ — — „ entfärbt.
K 320 000: 1. „ 5. „ „ 6. und Kontrollen entfärbt.
K 640 000: 1. „ 4. „ „ 5. und 6. und Kontrollen entfärbt.
K θ. 1. „ 4. „ , 5. , 6. „ „ „

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

K 20 000: 1. bis 4. Röhrchen blau, sonst entfärbt.
K 40 000: 1. „ 4. „ „ „ „
K 80 000: 1. „ 5. „ „ 6. und Kontrollen entfärbt.
K 160 000: 1. „ 5. „ „ 6. „ „ „
K 320 000: 1. „ 4. „ „ die übrigen entfärbt.
K 640 000: 1. „ 4. „ „ „ „ „
K θ: 1. „ 4. „ „ „ „ „

b) Optochinreihen:

Nach 2 Stunden:

K 20 000: 1. bis 6. Röhrchen blau, Kontrollen entfärbt.
K 40 000: 1. „ 6. „ „ „ „
K 80 000: 1. „ 6. „ „ „ „
K 160 000: 1. „ 6. „ „ „ „
K 320 000: 1. „ 6. „ „ „ „
K 640 000: 1. „ 6. „ „ „ „
K θ: 1. „ 6. „ „ „ „

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

K 20 000: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. und Kontrollen entfärbt.
K 40 000: 1. „ 6. „ „ Kontrollen entfärbt.
K 80 000: 1. „ 5. „ „ 6. und Kontrollen entfärbt.
K 160 000: 1. „ 4. „ „ 5. und 6. und Kontrollen entfärbt.
K 320 000: 1. „ 4. „ „ 5. „ 6. „ „ „
K 640 000: 1. „ 4. „ „ 5. „ 6. „ „ „
K θ: 1. „ 4. „ „ 5. „ 6. „ „ „

Die in verschiedenen Formaldehydkonzentrationen gezüchteten Pneumokokken derselben Ausgangskultur zeigen also, wie aus dem Hauptversuch a) zu ersehen ist, einen verschiedenen Empfindlichkeitsgrad gegenüber Formaldehyd. Während für die normale, unvorbehandelte Kultur die hemmende Grenzkonzentration des Formaldehyds

bei 1:8 000 liegt, beträgt sie vier- bzw. zweimal weniger für die in den relativ schwächeren Verdünnungen des Formalhedyds gewachsenen Kulturen K 80 000 und K 160 000 als für die Kontrollkultur K θ bzw. die in den stärkeren Formaldehydkonzentrationen gezüchteten Kulturen. Die in den höchsten Konzentrationen gewachsenen Kulturen zeigen ebenfalls eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Formaldehyd. Die Deutung der zwei Zonen erhöhter Empfindlichkeit, die in Analogie mit den schon früher angeführten Versuchen einerseits als spezifische Überempfindlichkeit (K 80 000 und K 160 000), andererseits als unspezifische Resistenzverminderung (K 200 000 und K 40 000) aufgefaßt werden könnten, stößt bei diesem letzten Versuch auf einige Schwierigkeit. Denn auch gegen das Optochin verhalten sich die in den verschiedenen Formaldehydkonzentrationen gewachsenen Kulturen verschieden, indem sowohl die in der stärksten (K 20 000), noch mehr aber die in der zweitstärksten Formaldehydkonzentration gewachsene Kultur K 40 000 eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Optochin aufweisen. Nun wäre es ja denkbar, daß die Zone der unspezifischen Resistenzverminderung dem Optochin gegenüber etwas weiter reicht als für das Formaldehyd. Aber in mehreren Versuchen mit anderen Pneumokokkenstämmen zeigte es sich, daß auch ganz schwache Formaldehydmengen, die gar keine Desinfektionswirkung im gewöhnlichen Sinne ausüben können, eine erhöhte Empfindlichkeit gegen Optochin, nicht aber gegen Phenol z. B. herbeiführen können. Und auch die im letzten Versuch angeführten Kulturen verhielten sich dem Phenol gegenüber gleich — bis auf die in der höchsten Formaldehydkonzentration gezüchtete Kultur K 20 000, die durch eine zweimal schwächere Phenolverdünnung in der Entfärbung des Methylenblaus behindert wurde als die übrigen Kulturen. Die Spezifität der Überempfindlichkeit der in den schwächeren Formaldehydverdünnungen gewachsenen Kulturen erscheint also im Hinblick auf das Phenol erhalten, hinsichtlich des Optochins aber durchbrochen.

Wie ist letztere Erscheinung zu erklären? Konnte man beim Chinin die chemische Verwandtschaft mit dem Optochin zur Deutung heranziehen, so ist das beim Formaldehyd nicht möglich. Möglicherweise besitzt der Wirkungsmechanismus der untersuchten Substanzen eine Bedeutung. Die hier beobachtete Erscheinung steht wahrscheinlich auch im Zusammenhang mit Beobachtungen anderer Autoren. Es sei hier z. B. erwähnt, daß *Morgenroth* und *Rosenthal* chininfeste Trypanosomen durch Behandlung mit Salvarsan wieder chininempfindlich machen konnten.

II. *Staphylokokken.*

Zu den Versuchen wurden Stämme verschiedener Provenienz genommen. Die Technik der Versuchsanordnung war im allgemeinen



die gleiche wie bei den Pneumokokken. Die meisten Versuche wurden mit Sublimat als überempfindlich machender Substanz angestellt; zur Prüfung der Überempfindlichkeit dienten außer dem Sublimat noch Argentum nitricum und Optochin. Der Zusatz des Sublimats zum Nährmedium (Nährbouillon) erfolgte ebenso wie bei den Pneumokokkenversuchen selbstverständlich unter Beachtung der Sterilitätskautelen, so daß eine nachträgliche Sterilisation des mit dem Gift versetzten Nährmediums nicht notwendig war. Es ist dies insofern von Bedeutung, als durch eine eventuelle Erhitzung ganz abweichende, unregelmäßige und vielfach auch ganz entgegengesetzte Resultate erhalten werden können.

1. Versuch.

Von einer 24stündigen Nährbouillonkultur des bis dahin in Agarstichkultur konservierten Staphylococcus pyogenes aureus „S" werden zehn Röhrchen mit je 10 ccm Nährbouillon beimpft, nachdem sie vorher mit Sublimat im Verhältnis 1: 20 000, 1: 200 000, 1: 2 Millionen, 1: 20 Millionen, 1: 200 Millionen und 1: 2 Milliarden versetzt worden waren. Als Kontrollkultur dient ein sublimatfreies beimpftes Nährbouillonröhrchen. Nach 24stündigem Aufenthalt bei 37° C erscheinen sämtliche Röhrchen mit Ausnahme desjenigen mit dem Sublimatgehalt 1: 20 000 gleichmäßig gut getrübt. In der früher geschilderten Weise werden von sämtlichen Kulturen die D. m. r. bestimmt, und zwar werden in Vorversuchen fallende Kulturmengen von 0,5 ccm, 0,4 ccm, 0,3 ccm, 0,2 ccm und 0,1 ccm mit steriler Nährbouillon auf 1 ccm ergänzt, mit Methylenblau versetzt, mit Paraffinöl überschichtet und in den Brutschrank (37° C) gestellt. Die Ablesung ergibt:

Nach 1 Stunde:

S 200 000: bis 0,3 ccm fast entfärbt, 0,2 und 0,1 ccm blau.
S 2 Millionen: bis 0,4 ccm fast entfärbt, 0,3 ccm schwach entfärbt, 0,2 und 0,1 ccm blau.
S 20 Millionen: 0,4 ccm fast entfärbt, 0,3 ccm schwach entfärbt, 0, 2 und 0,1 ccm blau.
S 200 Millionen: 0,4 ccm fast entfärbt, 0,3 ccm schwach entfärbt, 0,2 und 0,1 ccm blau.
S 2 Milliarden: wie S 200 000.
S θ: wie S 200 000.

Nach 2 Stunden:

S 200 000: bis 0,2 ccm fast entfärbt, 0,1 ccm blau,
S 2 Millionen: bis 0,2 ccm fast entfärbt, 0,1 ccm blau,
S 20 „ „ 0,2 ccm entfärbt, 0,1 ccm blau,
S 200 „ „ 0,2 ccm „ 0,1 ccm „
S 2 Milliarden: bis 0,3 ccm entfärbt, 0,2 ccm ziemlich stark entfärbt, 0,1 ccm blau.
S θ: bis 0,3 ccm entfärbt, 0,2 ccm fast entfärbt, 0,1 ccm blau.

Wie aus den Versuchen zu ersehen ist, unterscheiden sich die in den Nährmedien mit verschiedenen Sublimatgehalt gewachsenen Kulturen hinsichtlich ihres Reduktionsvermögens nicht wesentlich voneinander. Die geringen graduellen Differenzen der Entfärbungsintensität können im Bereiche der physiologischen Schwankungsbreite liegen oder durch Ungleichmäßigkeiten der Versuchsanordnung, wie



verschiedene Weite der Versuchsröhrchen oder dergleichen bedingt sein. Auch gehören Staphylokokken zu jenen Mikroorganismen, die keine Neigung zur vollständigen Reduktion des Methylenblaus zeigen bzw. bei denen die erfolgte Reduktion leicht von der Verküpung abgelöst werden kann; wahrscheinlich sind es die der Reduktion entgegengesetzten Lebensäußerungen oxydativer Natur, die dieses Verhalten bedingen.

Für die Hauptversuche werden die Kulturen $2^1/_2$fach mit steriler Nährbouillon verdünnt, so daß nach dem Zusammenbringen von 0,5 ccm Kulturverdünnung mit 0,5 ccm der Giftverdünnung 0,2 ccm unverdünnter Kultur, also die D. m. r. in jedem Röhrchen enthalten ist. Als wirksame Substanzen werden außer dem Sublimat noch Optochin und Argentum nitricum in je einer Parallelreihe für jede Kultur geprüft.

a) Hauptversuch mit Sublimat, welches fortlaufend 1: 20 000[1]), 1: 40 000. . . . bis 1: 2 560 000 (8. Röhrchen) verdünnt wird. 3 Kontrollen ohne Sublimat werden in jeder Reihe angesetzt. Methylenblau, Paraffinöl, Brutschrank. Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

S 200 000: 1. Röhrchen blau, 2. bis 7. schwach, 8. mäßig, Kontrollen fast entfärbt.

S 2 Millionen: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. schwach, Kontrollen fast entfärbt.

S 20 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. bis 8. mäßig, Kontrollen fast entfärbt.

S 200 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. mäßig, Kontrollen fast entfärbt.

S 2 Milliarden: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. bis 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.

S θ: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. mehr oder weniger, Kontrollen vollkommen entfärbt.

Nach 2 Stunden 10 Minuten:

S 200 000: 1. Röhrchen blau, 2. bis 8. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.

S 2 Millionen: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.

S 20 Millionen: 1. bis 5. Röhrchen blau, 6. bis 8. und Kontrollen fast entfärbt.

S 200 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen fast entfärbt.

S 2 Milliarden: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. schwach, 6. bis 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.

S θ: 1. und 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen entfärbt.

Nach 2 Stunden 20 Minuten.

S 200 000: 1. Röhrchen blau, 2. bis 8. und Kontrollen entfärbt.

S 2 Millionen: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen fast entfärbt.

S 20 Millionen: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 5. schwach, 6. bis 8. und Kontrollen fast entfärbt.

S 200 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 7. schwach, 8. und Kontrollen fast entfärbt.

[1]) Gemeint ist die nach dem Hinzufügen der Kultur resultierende Verdünnung.



S 2 Milliarden: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 4. in Spuren, 5. bis 8. und Kontrollen fast entfärbt.

S θ: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen entfärbt.

Der zuletzt angeführte Versuch mit Sublimat zeigt, daß Staphylokokkenkulturen desselben Ausgangsstammes je nach dem Gehalt der Kultur an $HgCl_2$ einen verschiedenen Empfindlichkeitsgrad gegenüber dem zur Vorbehandlung angewandten Quecksilberchlorid aufweisen. Während die in sublimatfreier Bouillon gewachsene Kultur bei zweistündiger Beobachtung durch eine $HgCl_2$-verdünnung 1:400 000 in der Entfärbung behindert wird, beträgt die hemmende Konzentration für die bei einem Sublimatgehalt 1:20 Millionen und 1:2 Milliarden der Nährlösung gewachsenen Kulturen 8 mal weniger und für S 200 Millionen sogar 32 mal weniger; dagegen wird S 200 000 erst durch eine Sublimatkonzentration 1:200 000 gehemmt und S 2 Millionen verhält sich zu gleicher Zeit wie die unbehandelte Kultur S θ. Nach weiteren 10 Minuten ändert sich dieser Zustand nicht wesentlich; nach zwei Stunden 30 Minuten sind es die Kulturen S 200 000 und S 200 Millionen, die gegenüber der Kontrollkultur S θ ein abweichendes Verhalten zeigten: S 200 000 wird noch immer durch die Sublimatkonzentration 1:200 000, S 200 Millionen durch eine solche von 1:1 600 000 und die Kontrollkultur (ebenso wie die übrigen) durch eine Sublimatkonzentration 1:400 000 gehemmt. S 200 000, die bei relativ größtem Sublimatgehalt gewachsen ist, zeigt also im Vergleich zur Kontrollkultur eine herabgesetzte Empfindlichkeit gegen Sublimat; S 200 Millionen ist dagegen gegen die zur Vorbehandlung genommene Substanz überempfindlich geworden. Weniger deutlich, weil nur während einer relativ kürzeren Beobachtungszeit, erscheint die Überempfindlichkeit bei den Kulturen S 20 Millionen und S 2 Milliarden.

Der zum Versuch genommene Staphylokokkenstamm verhält sich also hinsichtlich seiner Sublimatempfindlichkeit verschieden, je nach der Konzentration der toxischen Substanz, in der er gewachsen ist. Die höchste Sublimatkonzentration, in der eine Kultur eben noch zu erzielen war, hat eine Festigung gegen das Gift, die niederen Konzentrationen eine Überempfindlichkeit gegen das Sublimat herbeigeführt. Bemerkenswert ist, daß im angeführten Versuch die überempfindlichmachende Konzentration des Sublimats so gering ist; sie beträgt 1:200 Millionen, ja sogar 1:2 Milliarden. Zur Feststellung der Spezifität wurden mit derselben Kultur Hauptversuche mit Optochin und Argentum nitricum angesetzt.

b) Hauptversuch mit Optochin, welches fortlaufend 1000-, 2000- bis 64 000-fach (7. Röhrchen) verdünnt wurde. Im übrigen waren die Versuchsbedingungen dieselben wie beim Hauptversuch a) (Sublimat).





Ablesung nach 2 Stunden:

S 200 000: 1. Röhrchen blau, 2. bis 7. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
S 2 Millionen: wie S 200 000.
S 20 „ „ S 200 000.
S 200 „ „ S 200 000.
S 2 Milliarden: „ S 200 000.
S θ: „ S 200 000.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: wie oben.

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

S 200 000: 1 Röhrchen in Spuren, 2. bis 7. und Kontrollen fast entfärbt.
S 2 Millionen: wie S. 200 000.
S 20 „ wie S 200 000.
S 200 „ 1. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbt.
S 2 Milliarden: 1. „ „ „ „ „ „ „
S θ: 1. „ „ „ „ „ „ „

Die gegen das Sublimat nach Vorbehandlung mit dieser Substanz verschieden empfindlichen Kulturen zeigen dem Optochin gegenüber bei zweistündiger Beobachtung keine Empfindlichkeitsunterschiede; insbesondere zeigte keine der in verschiedenen Konzentrationen des Sublimats gewachsenen Kulturen eine Überempfindlichkeit gegen Optochin. Es liegt also bei der Erscheinung der Überempfindlichkeit gegen das Sublimat nicht etwa eine unspezifische Schädigung vor. Nach $2^1/_2$stündiger Beobachtung tritt zwischen den Kulturen insofern ein geringer Unterschied auf, als die in den höheren Sublimatkonzentrationen gewachsenen Kulturen S 200 000, S 2 Millionen und S 20 Millionen etwas weniger empfindlich erscheinen gegen das Optochin als die übrigen Kulturen.

c) Hauptversuch mit Argentum nitricum, das fortlaufend 20 000-, 40 000- bis 640 000fach (6. Röhrchen) verdünnt wird.

Sonst wie bei a) und b).

Ablesung nach 2 Stunden:

S 200 000: 1. und 2. Röhrchen blau, 3. in Spuren. 4. bis 6. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
S 2 Millionen: wie S 200 000,
S 20 „ „ S 200 000.
S 200 „ 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 6. und Kontrollen fast entfärbt.
S 2 Milliarden: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 6. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
S θ: wie S 2 Milliarden.

Nach 2 Stunden 10 Minuten: wie oben.

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

S 200 000: 1. und 2. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbt.
S 2 Millionen: wie S 200 000,
S 20 „ „ S 200 000,
S 200 „ „ S 200 000.
S 2 Milliarden: „ S 200 000,
S θ: „ S 200 000.



Es folgt aus dem Ergebnis des Hauptversuches c), daß die in Medien mit verschiedenem Sublimatgehalt gezüchteten Kulturen, graduelle, wenn auch nicht sehr stark ausgeprägte Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber dem Silbernitrat zeigen. Bei einer Beobachtungszeit von zwei Stunden bzw. zwei Stunden 10 Minuten erweist sich die Kultur S 200 Millionen gegenüber dem $AgNO_3$ empfindlicher als die Kontrollkultur, während die Kulturen S 200 000, S 2 Millionen und S 20 Millionen etwas gefestigt erscheinen. Hier erscheint also die Spezifität der allergischen Reaktionen der Bakterien wieder durchbrochen. Worauf dieses Verhalten zurückzuführen ist, kann nur vermutungsweise ausgesprochen werden. Am naheliegendsten erscheint die Annahme, daß der Charakter beider toxischen Substanzen als Metallsalze und die damit zusammenhängende Ähnlichkeit der Wirkungsart auf die Staphylokokken die Erscheinung verursacht.

Um das Verhalten der in dem letzten Versuch angewandten Kulturen bei der nächsten Kulturpassage in Medien mit verschiedenem Sublimatgehalt zu studieren, wurde von den noch zurückgebliebenen Anteilen der Kulturen S 200 000, S 200 Millionen und S θ in Röhrchen mit fallenden Sublimatmengen von 1:10000 bis 1:640000 abgeimpft und nach 6 bzw. 24 Stunden Aufenthalt im Brutschrank beobachtet.

Nach 6 Stunden:

S (200 000)[1]: 1: 10 000 und 1: 20 000 klar, 1: 40 000 enthält feinste Flocken, 1: 80 000 usw. schwach getrübt.

S (200 Millionen): 1: 40 000 klar, 1: 80 000 enthält kaum sichtbare Körnchen, 1: 160 000 usw. schwach getrübt.

S (0): bis 1: 40 000 klar, 1: 80 000 usw. schwach getrübt.

Nach 24 Stunden:

S (200 000): 1: 10 000 kein Wachstum, die übrigen gut getrübt.

S (200 Millionen): bis 1: 20 000 kein Wachstum, die übrigen gut getrübt.

S (θ): bis 1: 20 000 kein Wachstum, die übrigen gut getrübt.

Der Ausfall des letzten Kulturversuches erinnert an das Verhalten der überempfindlichen Pneumokokken (s. 4. Pneumokokkenversuch). Auch bei den Staphylokokken gelingt es seltener, die Überempfindlichkeit einer Kultur durch Passage im toxischen Medium nachzuweisen. Wohl sieht man zu Beginn des Kulturwachstums ein Zurückbleiben der überempfindlichen Kultur (nach sechs Stunden); im weiteren Verlauf verwischt sich aber diese Differenz und die im toxischen Medium gewachsene, tagsvorher noch überempfindliche Kultur, erscheint dann von normaler oder gar herabgesetzter Empfindlichkeit. Doch kommt es, wenn auch seltener vor, daß die Überempfindlichkeit auch in der Kulturpassage nachweisbar bleibt.

[1]) Bedeutet die aus dem Röhrchen mit Sublimat 1: 200 000 abgeimpfte Kultur.



Auch das, was bezüglich der Häufigkeit der mittels des Methylenblauverfahrens nachweisbaren Überempfindlichkeit bei den Pneumokokken oben gesagt wurde, gilt nach den bisherigen Ergebnissen auch für die Staphylokokken: auch hier gelingt es nicht immer, die Überempfindlichkeit zu erzeugen bzw. nachzuweisen. Insbesondere scheint die fortgesetzte Kultur der Stämme in gewöhnlicher giftfreier Nährbouillon sie für diese Versuche weniger geeignet zu machen. Besonders brauchbar erscheinen frisch aus dem Tierkörper gezüchtete Stämme. Auch eine relativ höhere primäre Empfindlichkeit der Keime gegenüber der zur Anwendung kommenden Substanz scheint ein begünstigendes Moment zu bilden. In derartigen in bezug auf den Nachweis der spezifischen Überempfindlichkeit negativ verlaufenden Versuchen kann aber dann noch die Festigung und die Zone der unspezifischen Resistenzverminderung nachweisbar bleiben, wie aus folgendem hervorgeht:

3. Versuch.

Von einer 24stündigen Nährbouillonkultur des im 2. Versuch angewandten, seither aber 14 mal durch Nährbouillon geschickten Staphylokokkenstammes „S" werden Bouillonröhrchen (à 10 ccm Inhalt), die fallende Sublimatmengen 1: 10 000, 1: 20 000, 1: 40 000, 1: 100 000, 1: 200 000, 1: 2 Millionen, 1: 20 Millionen, 1: 200 Millionen enthalten, und auch ein sublimatfreies Röhrchen beimpft. Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank erscheinen die Röhrchen mit 1: 10 000 und 1: 20 000 klar, jenes mit 1: 40 000 ist feinflockig getrübt und zeigt einen Bodensatz, bei 1: 100 000 und 1: 200 000 findet sich ein geringes Sediment bei gleichmäßiger Trübung; die übrigen Kulturen sind getrübt, ohne Sedimentbildung. Die in der gewöhnlichen Weise ausgeführten Vorversuche ergeben 0,15 ccm als Dos. min. red. für alle Kulturen mit Ausnahme der Kultur S 40 000, für die die D. m. r. 0,3 beträgt. Hierauf werden die Hauptversuche in Parallelreihen mit fallenden Sublimatmengen von 1: 20 000, 1: 40 000 . . . bis 1: 640 000 (6. Röhrchen) angesetzt. Methylenblau, Paraffinöl, 37° C.

Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

S 40 000: 1. bis 6. Röhrchen blau, Kontrollen ziemlich stark entfärbt.
S 100 000: 1. Röhrchen blau, 2. bis 4. schwach, 5. und 6. und Kontrollen fast entfärbt.
S 200 000: 1. und 2. Röhrchen blau, 3. bis 6. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.
S 2 Millionen: wie S 200 000.
S 20 „ 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. bis 6. und Kontrollen fast entfärbt.
S 200 „ 1. bis 3. Röhrchen blau, Kontrollen fast entfärbt.
S 2 Milliarden: wie S 200 Millionen.
S θ: wie S 200 Millionen.

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

S 40 000: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. und 6. und Kontrollen fast entfärbt.
S 100 000: 1. Röhrchen in Spuren, die übrigen mehr oder weniger entfärbt.
S 200 000: 1. Röhrchen blau, die übrigen mehr oder weniger entfärbt.
S 2 Millionen: wie S 200 000.
S 20 „ 1. und 2. Röhrchen blau, die übrigen mehr oder weniger entfärbt.

S 200 Millionen: wie S 20 Millionen.
S 2 Milliarden: 1. bis 2. Röhrchen blau, sonst mehr oder weniger entfärbt.
S θ: wie S 2 Milliarden.

Wie aus dem 3. Versuche also erhellt, ist es nicht immer möglich, die Überempfindlichkeit der in den relativ schwächeren Giftkonzentrationen gewachsenen Kulturen nachzuweisen. Unter den gleichen Versuchsbedingungen kommt aber bei den in den höheren Giftkonzentrationen gewachsenen Kulturen, besonders bei S 100 000 die Festigung zum Ausdruck, während die in der höchsten $HgCl_2$-Konzentration 1:40 000 gewachsene Kultur eine im Vergleich mit S 100 000 erhöhte Empfindlichkeit aufweist. Es handelt sich, wie aus hier nicht angeführten Versuchen mit Phenol hervorgeht, um die schon höher oben erwähnte unspezifische, relative oder absolute Resistenzverminderung.

III. Dysenterie- und Colibacillen.

Weniger günstige Resultate wurden bisher mit Stämmen der Dysenterie- und Coligruppe erzielt. Allerdings ist die Zahl der mit diesen Bacillen ausgeführten Versuche keine so große wie die mit Pneumokokken und Staphylokokken. Auch wurden bisher die wirksamen Substanzen nicht besonders variiert. Und — was hier schon vorausgeschickt werden mag — auch die Giftgewöhnung mit den angewandten Stämmen dieser Gruppe bzw. mit den herangezogenen toxischen Substanzen gab keine sehr zufriedenstellenden Resultate.

1. Versuch (Dysenterie).

Von einer 24stündigen Bouillonkultur eines Dysenteriestammes „D“ vom Typus Shiga-Kruse werden Röhrchen mit je 10 ccm Nährbouillon, die vorher mit fallenden Sublimatmengen, und zwar 1: 100 000, 1: 500 000, 1: 1 Million, 1: 5 Millionen, 1: 10 Millionen, 1: 50 Millionen, 1: 100 Millionen und 1: 500 Millionen versetzt wurden, und als Kontrolle ein sublimatfreies Bouillonröhrchen beimpft. Nach 24stündigem Verweilen im Brutkasten erscheinen die Röhrchen mit 1 : 100 000 und 1: 500 000 Sublimat vollkommen klar, jenes mit 1: 1 Million $HgCl_2$ schwach, die übrigen gut getrübt. Von den gewachsenen Kulturen werden Vorversuche zur Feststellung des Reduktionsvermögens Methylenblau gegenüber mit fallenden Kulturmengen 1 ccm, 0,8 ccm, 0,6 ccm, 0,4 ccm und 0,2 ccm in der gewöhnlichen Weise angesetzt.

Die Ablesung ergibt:

Nach 1 Stunde:

D 1 Million: unverändert,
D 5 Millionen: 1 ccm in Spuren entfärbt, die übrigen blau,
10 „ 1 schwach entfärbt, die übrigen blau,
D 50 „ 1 in Spuren entfärbt, die übrigen blau,
D 100 „ 1 „ „ „ „ „ „ „
D 500 „ 1 „ „ „ „ „ „ „
D θ „ 1 „ „ „ „ „ „

Nach 2 Stunden:

D 1 Million: 1 ccm und 0,8 ccm schwach entfärbt, die übrigen blau.
D 5 Millionen: bis 0,8 ccm fast, 0,6 ccm und 0,4 ccm mäßig entfärbt, 0,2 ccm blau.

D 10 Millionen: Die D 5 Millionen.
D 50 „ „ D 5 „
D 100 „ „ D 5 „
D 500 „ „ D 5 „
D θ „ „ D 5 „

Wie aus dem Versuch zu ersehen ist, unterscheidet sich die Kultur D 1 Million von den übrigen durch ihr viel geringeres Reduktionsvermögen; das entspricht der schon äußerlich wahrnehmbaren geringeren Trübung dieser Kultur bzw. der in der Volumseinheit enthaltenen geringeren Keimzahl, abgesehen von einer eventuellen Schädigung der Keime durch die relativ hohe Giftkonzentration. Zum Hauptversuche werden infolgedessen als D. m. r. von D 1 Million 0,8 ccm und von den übrigen Kulturen je 0,4 ccm genommen. Das Sublimat wird fortlaufend 1:200000, 1:400000 usw. bis 1:25600000 (8. Röhrchen) verdünnt. Methylenblau, Paraffinöl, 37° C. Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:
D 1 Million: 1. und 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. mäßig, Kontrollen schwach entfärbt,
D 5 Millionen: 1. bis 3. Röhrchen blau, 4. und 5. schwach, 6. bis 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.
D 10 Millionen: 1. bis 2. Röhrchen blau, 3. bis 5. schwach, 6. bis 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.
D 50 Millionen: wie D 1 Million.
D 100 „ „ D 1 „
D 500 „ „ D 1 „
D θ: „ D 1 „

Nach 2 Stunden 25 Minuten:
D 1 Million: 1. und 2. Röhrchen blau, 3. bis 8. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
D 5 Millionen: 1. und 2. Röhrchen entfärbt, 3. kaum in Spuren, die übrigen mehr oder weniger entfärbt.
D 10 Millionen: wie D 1 Million.
D 50 „ „ D 1 „
D 100 „ „ D 1 „
D 500 „ „ D 1 „
D θ „ D 1 „

Unter den in verschiedenen Sublimatkonzentrationen gewachsenen Kulturen des Dysenteriestammes „D“ zeichnet sich also jene bei einem $HgCl_2$-Gehalt von 1:5 Millionen durch eine nicht sehr deutlich ausgeprägte Überempfindlichkeit gegenüber dem Sublimat aus. Denn während die anderen Kulturen nach zweistündiger Beobachtung durch die Sublimatverdünnung 1:400000 in der Reduktion des Methylenblaus behindert werden, ist dies für D 5 Millionen bei 1:800000 der Fall. Nach zwei Stunden 25 Minuten ist die Empfindlichkeitsdifferenz weniger deutlich. Auch ist eine Festigungszone nicht nachweisbar. Bemerkenswert ist, daß in einzelnen Reihen die Kontrollen hinsichtlich des Entfärbungsgrades hinter den Röhrchen mit geringem Subli-



matgehalt zurückbleiben. In einzelnen Versuchen kam es sogar vor, daß zu einer Zeit, wo die Kontrollen noch blau waren, die Röhrchen mit geringerem Sublimatgehalt eine mehr oder weniger weit vorgeschrittene Reduktion des Methylenblaus aufwiesen. Es wäre denkbar, daß in solchen Fällen die kleinen Sublimatmengen einen anregenden Einfluß auf den Bakterienstoffwechsel ausübten. Daß nicht das Sublimat als solches die Reduktion verursachte, ging daraus hervor, daß die in den Röhrchen mit stärkeren $HgCl_2$-Konzentrationen, die also entwicklungshemmend wirkten, diese Erscheinung nicht zu beobachten war.

2. Versuch (Colibacillen).

Von einer 24stündigen Bouillonkultur des Stammes „C" von Bact. coli commune werden acht fallende $HgCl_2$-Mengen, 1: 100 000, 1: 500 000, 1: 1 Million, 1: 5 Millionen, 1: 10 Millionen, 1: 50 Millionen, 1: 100 Millionen, 1: 500 Millionen enthaltende Bouillonröhrchen beimpft. Als Kontrolle wird eine Kultur in sublimatfreier Bouillon angelegt. Nach 24 Stunden zeigt das Röhrchen mit 1: 100 000 Sublimat kein Wachstum, die übrigen erscheinen gut getrübt. Die in der gewöhnlichen Weise angesetzten Vorversuche mit fallenden Kulturmengen 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 und 0,1 ccm ergeben nach 2 Stunden:

C 500 000: bis 0,4 ccm fast, 0,3 ccm mäßig stark entfärbt, 0,2 ccm und 0,1 ccm blau,
C 1 Million: bis 0,2 ccm fast entfärbt, 0,1 ccm blau,
C 5 Millionen: wie C 1 Million,
C 50 „ „ C 1 „
C 100 „ „ C 1 „
C 500 „ „ C 1 „
C 0 „ C 1 „

Von den in verschiedenen Konzentrationen des Sublimats gewachsenen Kulturen des Kolistammes „C" zeigt also die in der Nährbouillon mit dem relativ höchsten $Hg\ Cl_2$-Gehalt erhaltene ein geringeres Reduktionsvermögen als die übrigen Kulturen, und zwar beträgt die D. m. r. für C 500 000 0,3 ccm, für die anderen 0,2 ccm.

Zum Hauptversuch wird das Sublimat fortlaufend 20 000-, 40 000- usw. bis 2 560 000fach (8. Röhrchen) verdünnt. Die Kulturen werden mit steriler Nährbouillon so verdünnt, daß in jedem Versuchsröhrchen 0,2 ccm Kultur in einem Gesamtvolumen von 1 ccm enthalten ist; nur die Röhrchen der Versuchsreihe C 500 000 enthalten je 0,3 ccm Kulturen. Methylenblau, Paraffinöl, 37° C. Die Ablesung ergibt:

Nach 2 Stunden:

C 500 000: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und 8. schwach, Kontrollen ziemlich stark entfärbt,
C 1 Million: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 8. und Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
C 5 Millionen: wie C 1 Million.
C 50 „ 1. bis 8. Röhrchen blau, Kontrollen mäßig stark entfärbt.
C 100 „ 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.



C 500 Millionen: 1. bis 4. Röhrchen blau, die übrigen und die Kontrollen mehr oder weniger entfärbt.
C θ wie C 500 Millionen.

Nach 2 Stunden 30 Minuten:

C 500 000: 1. bis 6. Röhrchen blau, 7. und 8. und Kontrollen fast entfärbt.
C 1 Million: 1. bis 4. Röhrchen blau, 5. bis 8. und Kontrollen ziemlich stark entfärbt.
C 5 Millionen: wie C 1 Million.
C 50 Millionen: 1. bis 7. Röhrchen blau, 8. und Kontrollen fast entfärbt.
C 100 „ 1. bis 5. Röhrchen blau, die übrigen mehr oder weniger entfärbt.
C 500 Millionen: wie C 1 Million.
C θ wie C 1 Million.

Aus den zurückgebliebenen unverdünnten Kulturanteilen werden Abimpfungen in Nährbouillonröhrchen, die mit fallenden Sublimatmengen im Verhältnis 1:20 000, 1:40 000, 1:80 000, 1:160 000 und 1:320 000 versetzt wurden, vorgenommen. Nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C ist folgendes zu sehen:

Die aus C 500 000 abgeimpfte Reihe ist steril geblieben; nur in dem sublimatfreien Bouillonröhrchen ist eine Vermehrung eingetreten. Die Abimpfungen von C 1 Million ergaben bei $HgCl_2$ 1: 160 000 schwaches, bei 1:320 000 üppiges Wachstum, jene von C 50 Millionen blieben sämtlich steril; von den Kulturen C 5 Millionen, C 500 Millionen und C θ gingen die Abimpfungen bei 1:320 000 üppig, von C 100 Millionen nur spärlich an.

Wie aus obigem Versuch zu ersehen ist, erweisen sich die in Nährmedien mit verschiedenen Sublimatgehalt gezüchteten Colikulturen desselben Ausgangsstammes sowohl bei Prüfung ihres momentanen Empfindlichkeitszustandes mittels des Methylenblauverfahrens als auch bei der späteren Kultur im sublimathaltigen Medium verschieden empfindlich dem Sublimat gegenüber. Mittels des Methylenblauverfahrens lassen sich zwei Zonen erhöhter Empfindlichkeit konstatieren: die eine bei C 500 000, also der höchsten Giftkonzentration, die ein Wachstum noch zuließ, die andere bei C 50 Millionen, d. h. bei einer relativ sehr dünnen Sublimatkonzentration; die erste ist wohl auf die unspezifische Resistenzminderung durch die hohe Giftkonzentration zurückzuführen, wie das schon aus dem Ausfall des Vorversuches zu ersehen ist, bei dem die Kultur ein relativ geringeres Reduktionsvermögen zeigt; das Verhalten der Kultur C 50 Millionen ist als Erscheinung der spezifischen Überempfindlichkeit aufzufassen, wie man sich leicht durch Prüfung mit anderen wirksamen Substanzen, wie Phenol oder Optochin überzeugen kann. Der Ausfall der aus den verschiedenen Kulturen vorgenommenen Abimpfungen in Medien mit wechselndem $HgCl_2$-Gehalt zeigt, daß es unter Umständen auch mittels der Kulturpassage möglich ist, die Überempfindlichkeit nachzuweisen. Immer-



hin gehört letzteres zu den weniger häufigen Vorkommnissen. Außer der Überempfindlichkeit der Kultur C 50 Millionen kommt bei der Passage auch die Resistenzverminderung von C 500 000 und interessanterweise auch eine geringe Festigung von C 1 Million zum Ausdruck.

Wie bereits erwähnt wurde, verliefen die bisher mit einigen Stämmen der Coli- und Dysenteriegruppe ausgeführten Versuche im allgemeinen weniger günstig. Im ganzen wurden nur zwei verschiedene *Shiga-Kruse*- und drei Colistämme je 5 mal geprüft. Als wirksame Substanzen dienten Sublimat und Optochin. Während mit dem, diese Bakterien nur relativ wenig beeinflussenden Optochin bisher durchweg negative Resultate erzielt wurden, war es bei Anwendung des Sublimats möglich, je 2 mal bei den Dysenterie- bzw. Colibazillen eine echte Überempfindlichkeit zu erzielen; nur ein Colistamm erwies sich in dieser Hinsicht als vollkommen refraktär.

Übersieht man die oben angeführten Versuche, so erscheint es zweifellos, daß es möglich ist, Bakterien gegen verschiedene wirksame Substanzen überempfindlich zu machen und daß diese Erscheinung in erster Linie eine Funktion der *Konzentration* der wirksamen Substanz zu sein scheint. Aber auch noch ein zweiter, in den bisherigen Ausführungen noch wenig berücksichtigter Faktor dürfte beim Zustandekommen des Phänomens eine große Bedeutung haben, und zwar *die Zeit*.

Schon a priori liegt es nahe, den Zusammenhang zwischen der bei den Versuchen zutage tretenden Festigung und der Überempfindlichkeit der Bakterien so aufzufassen — und die analogen Erfahrungen der Tierpathologie unterstützen eine solche Annahme —, daß die Überempfindlichkeit nur ein Vorstadium der herabgesetzten Empfindlichkeit oder Festigung bildet. Einzelne Versuche würden in diesem Sinne sprechen. So das Verhalten der überempfindlichen Kulturen bei der nächsten Kultur im gifthaltigen Medium, wo die vorher überempfindliche Kultur entweder zur normalen Empfindlichkeit, die in diesem Falle auch eine relative Giftgewöhnung bedeutet, zurückkehren oder sogar gefestigt erscheinen kann. Auch die Tatsache, daß Kulturen, die sich leichter an Gifte gewöhnen lassen, sich für den Nachweis der Überempfindlichkeit besser eignen, spricht dafür. Wenn diese Annahme richtig ist, dann erscheint auch die Bedeutung der Zeit als Hauptfaktor begreiflich.

Eine definitive Beantwortung dieser Frage nach dem Zusammenhang zwischen Festigung und Überempfindlichkeit bzw. der gegenseitigen Äquivalenz der zwei Hauptfaktoren, Konzentration und Zeit, kann nur von entsprechend angesetzten Versuchen erwartet werden. Die bisher in dieser Richtung ausgeführten Versuche haben tatsächlich



Anhaltspunkte für die oben entwickelte Anschauung ergeben. Über dieselben wird später berichtet werden.

Zum Schluß sei noch mit einigen Worten auf die eingangs erwähnten Mitteilungen aus der Literatur und deren Beziehungen zu den hier niedergelegten Befunden eingegangen. Da fast alle hier angeführten Autoren nur das Bestreben hatten, die Lebewesen an toxische Substanzen zu *gewöhnen* und zu diesem Zwecke Abimpfungen aus den höchsten Giftkonzentrationen vornahmen, so ist es höchst wahrscheinlich, daß die dabei zutage tretenden erhöhten Empfindlichkeiten der angewandten Bakterien und Protozoen in das Gebiet der von mir hier beschriebenen unspezifischen Resistenzverminderung durch die hohen Giftkonzentrationen fallen. Hierher gehören die Befunde von *Davenport* und *Neal*, von *Neuschloss* und von *Meissner*. Auch bei der *Morgenroth-Bieling*schen Beobachtung dürfte es sich um eine unspezifische Resistenzverminderung der in der höheren Isoctylhydrocupreinkonzentrationen gewachsenen Gasbrandbacillen handeln; dazu kommt noch, daß bei den betreffenden Versuchen die unentbehrlichen Kontrollen zur Feststellung der Empfindlichkeit der normalen unbehandelten Kultur fehlen, ferner die von den Autoren selbst gewürdigte Bedeutung des Nährbodenwechsels (zuerst Traubenzuckeragar, dann Traubenzuckerascitesagar). In einem anderen Lichte erscheinen die Versuche von *Richet*, *Bachrach* und *Cardot*, die unter ganz anderen, als den von mir hier angeführten Versuchsbedingungen eine „Anaphylaxie" der Milchsäurebacillen wahrnahmen. Die Bedenken, die sich aus der *länger* fortgesetzten Züchtung von Bakterien in Medien, deren Konstanz nur schwer kontrollierbar ist, ergeben, betreffen auch die Befunde der letztgenannten Autoren, besonders da der Nachweis der Spezifität dieser „Anaphylaxie" nicht erbracht ist.

Zusammenfassung:

Die mitgeteilten Versuche entsprangen der Erwägung, daß, wenn es überhaupt möglich sei, Bakterien gegen wirksame Substanzen überempfindlich zu machen, dies mit Rücksicht auf die Möglichkeit der Giftgewöhnung von Bakterien schon nach mehrstündiger Einwirkung und bei dem vermutlich engen Zusammenhang zwischen Gewöhnung und Überempfindlichkeit, schon bei der gewöhnlichen Eintagskultur möglich sein müßte.

Zwecks Vermeidung der durch die fortgesetzte Kultur bedingten Fehlerquellen wurde die Empfindlichkeit der zu prüfenden Kulturen mittels des früher beschriebenen Methylenblauverfahrens festgestellt; auf diese Weise war es möglich, den momentanen Empfindlichkeitsgrad einer Kultur binnen weniger Stunden zu bestimmen. Zu den Versuchen wurden Pneumokokken, Staphylokokken, Dysenterie- und



Colibacillen herangezogen. Als wirksame Substanzen dienten Optochin, Sublimat, Formaldehyd, Chinin, Phenol und Argentum nitricum.

Wurden Pneumokokken in Serumbouillonröhrchen mit verschiedenem Optochingehalt gezüchtet, so konnten nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C zwei bis drei von der Norm verschiedene Empfindlichkeitszonen festgestellt werden. Die in den höheren Optochinkonzentrationen (im Durchschnitt bei 1:500000) gewachsenen Kulturen waren gegen das Optochin gefestigt, während die in den relativ dünneren Konzentrationen gezüchteten (bei ca. 1:5 bis 1:30 Millionen) sich gegen das Alkaloid mehr oder weniger stark überempfindlich erwiesen. Diese Überempfindlichkeit war insofern spezifisch, als sie dem Phenol gegenüber nicht zum Ausdruck kam. In manchen Fällen war die Spezifität keine absolute; denn optochinüberempfindliche Pneumokokken zeigten sich manchmal bis zu einem gewissen Grad auch dem chemisch nahestehenden Chinin gegenüber überempfindlich. Im Gegensatz zu dieser, durch eine, wenn auch plastische Spezifität ausgezeichneten Überempfindlichkeit entbehrt die nicht selten bei den in den höchsten Giftkonzentrationen eben noch gewachsenen Pneumokokken wahrnehmbare erhöhte Empfindlichkeit des Merkmals der Spezifität vollkommen: hier handelt es sich um eine durch die hohe Optochinkonzentration zustande gekommene unspezifische Schädigung der Keime.

Die in verschiedenen Formaldehydkonzentrationen derselben Ausgangskultur gezüchteten Pneumokokken zeigen auch einen verschiedenen Empfindlichkeitsgrad gegen dieses Gift, und zwar erwies sich ein Formaldehydgehalt von 1:80000 bis 1:320000 des Nährmediums als der überempfindlichmachende. Hier erschien die Spezifität dadurch durchbrochen, daß formaldehydüberempfindliche Pneumokokken manchmal auch eine erhöhte Empfindlichkeit gegen Optochin, nicht aber gegen Phenol zeigten.

Ein analoges Verhalten äußerten Staphylokokken gegen Sublimat, indem die in Nährbouillon mit verschiedenen Sublimatgehalt gewachsenen Kulturen eine je nach der Konzentration der toxischen Substanz verschiedene Empfindlichkeit gegen Sublimat aufwiesen, und zwar führte die höchste Sublimatkonzentration, in der eine Kultur eben noch zu erzielen war, in der Regel eine Festigung, die niederen Konzentrationen 1:20 Millionen bis 1:200 Millionen und sogar 1:2 Milliarden, eine Überempfindlichkeit herbei. Vielfach war jenseits der Festigungszone noch eine Zone von relativ (im Verhältnis zur gefestigten Kultur) oder absolut (im Vergleich mit der Kontrollkultur in sublimatfreier Bouillon) erhöhter, durch eine unspezifische Resistenzverminderung bedingter Empfindlichkeit zu sehen. Sublimatüberempfindliche Staphylokokkenkulturen waren häufig in geringem Grade auch gegen Silbernitrat, nicht aber gegen Phenol oder Optochin überempfindlich. Diese



Beschränkung der Spezifität des Phänomens könnte durch den Charakter beider Substanzen ($HgCl_2$ und $AgNO_2$)) als Metallsalze und die damit zusammenhängende Ähnlichkeit der Wirkungsart auf die Keime bedingt sein.

Weniger günstige Resultate wurden mit Repräsentanten der Dysenterie- und Coligruppe erzielt. Immerhin gelang es auch hier, wenn auch seltener, eine spezifische Überempfindlichkeit gegen Sublimat zu erreichen. Bemerkenswert ist, daß bei diesen Bakterien auch die Giftgewöhnungsversuche keine sehr zufriedenstellenden Resultate zeitigten.

Aber auch bei Bakterien, die sich für die Überempfindlichkeitsversuche als geeignet erwiesen haben, war es nicht immer möglich, eine Überempfindlichkeit herbeizuführen bzw. mittels des Methylenblauverfahrens nachzuweisen, ohne daß hierfür eine erschöpfende Erklärung gegeben werden konnte. Seltener gelang der Nachweis der Überempfindlichkeit mit Kulturpassagen in toxischen Medien. Es hat den Anschein, als ob die überempfindlichen Keime schon in der nächsten Passage noch während des Wachstums im toxischen Medium eine Änderung erfahren würden, indem sie nicht nur nicht mehr überempfindlich, sondern im Gegenteil etwas gefestigt erscheinen können. Dieses Verhalten verleiht der von vorneherein naheliegenden Annahme eine Stütze, daß zwischen der Überempfindlichkeit und der Giftgewöhnung ein inniger Zusammenhang besteht. Eine Klärung darf von eingeleiteten Versuchen erwartet werden, die sowohl die Giftkonzentration wie auch die Zeit als Hauptfaktoren beim Zustandekommen der genannten Phänomene berücksichtigen.

Literaturverzeichnis.

Bieling, R., Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. Therap. **27**. 1918. — *Cobet* und *van der Reis*, Biochem. Zeitschr. **129**. — *Davenport* u. *Neal*, Arch. f. Entwicklungsmechanik, **2**. — *Doerr, R.*, Ergebn. d. Hyg., Bakteriol., Immunitäts-Forsch. u. exp. Therap. **5**, 1922. — *Doerr, R.*, Schweiz. med. Wochenschr. 1921. — *Ehrlich, P.*, Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. I., Ref., Beiheft 1911. — *Ehrlich, P.*, Folia Serologica **3**. 1911. — *Meissner, C.*, Akkommodationsfähigkeit einiger Schimmelpilze. Inaug.-Diss. Leipzig 1902. — *Morgenroth, J.*, Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 47. — *Morgenroth, J.* u. *Bieling*, ebenda 1917, Nr. 30. — *Morgenroth*, J. u. *Rosenthal*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **71**. — *Neuschloß, S.*, Arch. f. d. ges. Physiol. **176** u. **178**. 1920. — *Richet, C.*, *Bachrach* et *Cardot*, Compt. rend. d. l'Acad. d. Sciences 171 u. 172. — *Shiga, K.*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **18**. — *Schnabel, A.*, Biochem. Zeitschr. **108**. 1920. — *Schnabel, A.*, Biochem. Zeitschr. **122**. 1921. — *Seiffert*, W., Biochem. Zeitschr. **129**.



(Aus der Bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes.)

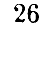
Zur Frage der persönlichen Prophylaxe bei der Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten.

Von
P. Manteufel.

Der Widerstand gegen die Verbreitung prophylaktischer Selbstschutzmaßnahmen bei den ansteckenden Geschlechtskrankheiten stützt sich in der Hauptsache auf zwei Gründe. Erstens sind es Bedenken sittlicher Natur mit der Begründung, daß in der Empfehlung derartiger Mittel ein Anreiz zum außerehelichen Geschlechtsverkehr liege, daß die Aufklärung der Jugend über die gesundheitlichen Gefahren des Geschlechtsverkehrs außerhalb der Ehe das wichtigste Kampfmittel gegen die Unsittlichkeit, und daß die Angst vor einer Infektion das beste Prophylakticum gegen die Geschlechtskrankheiten sei. Wenn auch der Wert dieser Aufklärungsarbeit nicht verkannt werden darf, so muß man doch angesichts der im Gefolge des Krieges weit verbreiteten Erkrankungen an Tripper und Syphilis bezweifeln, daß auf diesem Wege allein eine baldige Besserung zu erzielen sein wird, denn man hat wohl gerade auf diesem Gebiete sicher mit einer Mehrheit solcher Schützlinge zu rechnen, die sich ungeachtet aller Belehrung und Warnung doch der Gefahr der Ansteckung aussetzen.

Während dieser Kreis der Prophylaxegegner hauptsächlich aus Nichtärzten besteht, verhält sich auch ein nicht so geringer Teil der Ärzteschaft ablehnend, weil angeblich alle Selbstschutzmaßnahmen nicht mit absoluter Sicherheit die Infektion verhindern, dabei aber durch Erweckung eines Sicherheitsgefühls zum Mißbrauch verleiten und dadurch den Erfolg solcher Maßnahmen tatsächlich in das Gegenteil verkehren. Unter solchen Begründungen hat sich z. B. eine große Anzahl der bekanntesten Fachärzte Englands nach einer Notiz der Deutsch. med. Wochenschr. in einem offenen Brief an die Lancet (3. XII. 1921) gegen die Selbstdesinfektion als Schutzmaßnahme bei Geschlechtskrankheiten ausgesprochen*). Die angeführten Gründe mögen auf den ersten Blick berechtigt erscheinen, wenn man bedenkt, daß die Erfolge der persönlichen Prophylaxe während des langen Krieges anscheinend bei

*) Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 8, S. 265.





allen Heeren den Erwartungen nicht entsprochen haben. Aber wie bei jeder Prophylaxe, ist sicherlich auch hier die Ursache für Mißerfolge nicht nur in den Methoden zu suchen, sondern auch in den Personen, die sie zur Anwendung bringen. So hat sich beispielsweise bei der Chininprophylaxe der Malaria immer gezeigt, daß ihr Gelingen ein gewisses Maß von Verständnis und Mitarbeit von seiten der Beteiligten oder mindestens eine zwangsmäßige Disziplin voraussetzt. Auch bei der Prophylaxe der Geschlechtskrankheiten beweisen die relativ besseren Erfolge in der deutschen Marine, daß dem mangelnden Verständnis durch einen gewissen Zwang nachgeholfen werden kann. Mit einem bestimmten Bruchteil von Mißerfolgen muß allerdings jede Schutzmaßregel gegen Infektionskrankheiten rechnen, auch wenn alle Bedingungen günstig liegen, und trotzdem wäre es wohl nicht richtig, prophylaktische Maßnahmen deshalb als *gefährlich* zu bezeichnen, weil sie *keine unfehlbare Sicherheit gewähren*. Andererseits ist es durch die neueren experimentellen Untersuchungen auf diesem Gebiet *doch sehr zweifelhaft geworden, ob die während des Krieges empfohlenen Methoden der Prophylaxe überhaupt mehr zu leisten imstande waren*. Es scheint im Gegenteil, daß sie (namentlich die Syphilisprophylaxe mit Kalomelsalben) stark überschätzt wurden und verbesserungsbedürftig sind. Man darf zunächst die Hoffnung nicht aufgeben, daß sie auch verbesserungsfähig sind, und ehe diese Frage nicht im verneinenden Sinne entschieden ist, ist wohl jede Polemik gegen die Wirksamkeit des Selbstschutzes als verfrüht zu bezeichnen. *So spitzt sich die ganze Frage des Selbstschutzes gegen Geschlechtskrankheiten darauf zu, ob es möglich ist, eine größere Zuverlässigkeit und umfangreichere Benutzung der Schutzmittel zu erreichen.*

Auch das Lager der Prophylaxefreunde ist gespalten. Die eine Partei erklärt den Schutz mittels Condoms oder ähnlicher Schutzhüllen für allein wirksam, während die andere auch mit chemischen Desinfektionsmitteln zum Ziel kommen zu können glaubt.

Die mechanisch wirkenden Schutzhüllen bestehen bekanntlich aus Gummierzeugnissen oder aus tierischen Membranen, die insbesondere aus dem Blinddarm der Schafe gefertigt werden. Neuerdings bringt nach einer Mitteilung von *Grotjahn*[1]) außerdem die Zeppelinindustrie ein Erzeugnis in den Handel, das die teuren Gummi- und Cöcalcondome zu ersetzen berufen sein soll. Die Schutzhüllen haben, obzwar sie sich nur zur Verwendung beim männlichen Geschlecht eignen, den entschiedenen Vorteil, daß sie unter der Voraussetzung ihrer Intaktheit die Berührungsflächen beim Geschlechtsverkehr auf ein Mindestmaß verringern und so einen vollkommenen Schutz gegen Gonorrhöe sowie einen recht erheblichen Schutz gegen Syphilis gewähren. Daß auch diese theoretisch wirksamste aller Schutzmaßnahmen aber nicht unfehlbar



wirkt, beweisen Beobachtungen, bei denen an den von der Schutzhülle nicht bedeckten Körperteilen (Peniswurzel, Scrotum) Primäraffekte zustandegekommen sind. Immerhin könnten derartige Versager wegen ihrer Seltenheit bei der Seuchenbekämpfung in den Kauf genommen werden, wenn die Möglichkeit bestände, den Gebrauch der Schutzhüllen so einzubürgern wie etwa den Gebrauch des Gummihandschuhs bei septischen Operationen.

Bisher hat die Erfindung des Condoms allerdings einen nennenswerten Einfluß auf die Verbreitung der Geschlechtskrankheiten nicht gewonnen, und es scheint zweifelhaft, ob sich in Zukunft darin viel ändern wird. Zunächst ist die Kostenfrage als ein sichtliches Hindernis anzusehen. Der Preis für eine Schutzhülle stellt sich gegenwärtig auf 15—20 M., und das bedeutet für die knappen Geldmittel der meisten jungen Männer eine erhebliche Ausgabe, zumal ein Condom nur für einen einmaligen Gebrauch bestimmt ist. Schwerer ins Gewicht fällt der Umstand, daß die richtige Anwendung der Schutzhüllen Übung und Vorbereitungen erfordert. Das Anlegen der Cöcalcondome erfolgt nach der Gebrauchsanweisung derart, daß man sie vorher mit Wasser füllt und nach dem Überziehen (ebenso wie bei den Gummihüllen) eine Einfettung mit einer Gleitsalbe vornimmt, um die Gefahr des Platzens der Hüllen beim Beischlaf zu verringern. Wenn man nun in Betracht zieht, daß der außereheliche Geschlechtsverkehr, bei dem die Prophylaxe am dringendsten erforderlich ist, häufig nicht im Schlafzimmer vor sich geht, sondern bei improvisierten Gelegenheiten (wo Beleuchtung und Waschwasser für die sachgemäße Anwendung fehlt), dann versteht man, warum die Vorzüge der Condome bei zahlreichen Infektionsgelegenheiten ungenützt bleiben. Sie treten hauptsächlich beim geregelten Geschlechtsverkehr in die Erscheinung, wo weniger der Schutz gegen Ansteckung als die Verhütung der Empfängnis in Frage kommt. Schließlich ist auch der Umstand nicht zu übersehen, daß ein Teil der männlichen Jugend die Benutzung der Condome aus psychischen Gründen ablehnt. Nach der Ansicht erfahrener Ärzte ist diese Zahl sogar ziemlich bedeutend, so daß man keinen Anlaß hat, dabei an Ausnahmefälle von Geschlechtsneurasthenie zu denken.

Außer den Schutzhüllen hat man zu den mechanischen Schutzmitteln noch die nach der Empfehlung von *Neisser* ante coitum anzuwendenden nicht desinfizierenden Salben zu rechnen, die mittels Einfettung des männlichen Gliedes die äußere Haut vor dem Eindringen der Syphilisspirochäten schützen sollen. Insonderheit sollen die unbeachteten kleinen Erosionen des Penis, die so häufig die Eintrittspforte für die Infektion mit Syphilis abgeben, mit einem fettigen Überzug bedeckt und weitere beim Beischlaf entstehende Verletzungen verhindert werden. Da das einfache Verfahren der Einfettung keinerlei Übung und Vor-



bereitung erfordert, ist anzunehmen, daß es sich leichter als der Condom für die Allgemeinheit nutzbar machen läßt, zumal das ständige Beisichtragen einer kleinen Tube mit Vaseline ebenfalls keine großen Schwierigkeiten und Ausgaben macht. Experimentelle Untersuchungen von mir und *Zschucke*[2a]) haben abweichend von früheren Versuchen *Papamarkus*[2b]) indes gezeigt, daß diese rein mechanische Salbenprophylaxe zwar einen gewissen Teil, aber nicht alle Infektionen zu verhindern vermag. In dem auf Tabelle IIb protokollarisch mitgeteilten Versuch ist ein vollkommener Schutz gegen percutane Recurrensinfektion mit allerdings sehr virulentem Blut sogar nur in einem von 5 Fällen gelungen. Aus einem weiteren Versuche (vgl. Tabelle Ib), bei dem der Schutz gegen eine percutane Recurrensinfektion mit Lanolin, einer ungereinigten gelben und einer amerikanischen weißen Vaseline, völlig versagt hat, scheint hervorzugehen, daß für ein hochvirulentes Virus der mechanische Salbenschutz überhaupt kein ausreichendes Hindernis darstellt. Auf die Möglichkeit dieser relativen Beziehungen hat bereits *Neufeld*[8]) hingewiesen. Ein weiterer Mangel des mechanischen Salbenschutzes liegt darin, daß er nur einen Schutz gegen die Infektion der äußeren Haut, nicht aber auch gegen die Infektion von der Schleimhaut aus anstrebt, also auch nicht gegen die Primäraffekte und die gonorrhoischen Infektionen der Harnröhre.

Die zweite Richtung der Prophylaxefreunde betreibt die Ausnützung von antiseptischen Mitteln zum Schutz gegen Geschlechtskrankheiten. Dieser Gedanke hat die Ärzte hinsichtlich der Syphilis schon seit Jahrhunderten beschäftigt, aber erst durch die Entdeckung der spezifischen Krankheitserreger bei der Gonorrhöe und Syphilis sichere Unterlagen bekommen. Die experimentelle Bearbeitung der Frage begann mit der Einführung der *Metschnikoff*schen Kalomelsalbe zur Prophylaxe gegen Syphilis und der Höllenstein- und Protargollösung durch *Credé* und *Blokusewsky* gegen die Gonokokken-Infektion; sie führte im Laufe der Jahre zu der Herstellung verschiedener „Schutzbestecke“, die in handlicher Form je ein spezifisches Mittel gegen Syphilis und Tripper enthalten.

Diese Prophylaxe hat bei der Erprobung im großen, wozu der letzte Krieg so umfangreich Gelegenheit bot, anscheinend bei allen Heeren, abgesehen von kleineren Teilerfolgen, die Erwartungen nicht erfüllt, und da man keinen Grund hatte, an der Wirksamkeit der Mittel zu zweifeln, suchte man die Ursache des Mißerfolges zunächst in der unsachgemäßen Anwendung. Man ging deshalb, gestützt auf die günstigen Ergebnisse bei der Marine, dazu über, die Prophylaxe *nachträglich* durch sachverständiges Personal in öffentlichen Desinfektionsstuben vornehmen zu lassen. Die Erfolge dieser Einrichtung werden im ganzen als befriedigend bezeichnet, und so ist man nach dem Kriege dem Gedanken näher getreten, die öffentlichen Desin-

Tabelle I.)*

a) Schutzmittelprüfung in vitro mit Gonokokken.

Die Testflüssigkeit bestand aus doppelt mit Kochsalzlösung verdünntem Menschenserum, dem erst das Desinfektionsmittel und dann 2 Tropfen Gonokkenaufschwemmung zugesetzt wurde.

nach	5′	10′	15′	30′
1. Ölsaures Natron 1%	0	0	0	0
2. „ „ 2%	0	0	0	0
3. „ „ 2,5%	0	0	0	0
4. „ „ 3%	0	0	0	0
5. Sapo medicatus 0,25%	19 Kol.	10 Kol.	10 Kol.	17 Kol.
6. „ „ 0,5%	5 „	1 „	0	1 „
7. „ „ 1%	3 „	3 „	0	0
8. „ „ 2%	0	0	0	0
9. „ „ 2,5%	0	0	0	0
10. Kontrolle	+++	+++	+++	+++

Ergebnis: 1 proz. Lösung von ölsaurem Natrium hebt das Gonokokken-Wachstum innerhalb 5 Minuten, dieselbe von Sapo medicatus innerhalb 15 Minuten auf.

b) Schutzmittelprüfung in vivo mit Recurrensspirochäten.

nach		2	3	4	5	6	7	8 Tagen
Lanolin (4 Mäuse)	a	0	0	0	++	·	·	·
	b	0	±	++	+++	·	·	·
	c	0	+	+++	·	·	·	·
	d	0	0	0	++	·	·	·
Gelbe Vaseline (3 Mäuse) . .	a	+	+++	+++	·	·	·	·
	b	±	++	+++	+++	·	·	·
	c	0	+	+	+	0	0	+
Weiße Vaseline (7 Mäuse) . .	a	0	0	0	+	++	·	·
	b	±	++	+++	+++	·	·	·
	c	0	+	+	0	0	0	0
	d	0	±	++	+++	·	·	·
	e	0	+	++	++	·	·	·
	f	+	++	+++	+++	·	·	·
	g	0	+	++	++	·	·	·
Sapo medicatus 5 proz. Salbe (3 Mäuse) . .	a	0	0	0	0	0	0	0
	b	0	0	0	0	0	0	0
	c	0	0	0	0	0	0	0
Unbehand. Kontrollen (2 Mäuse)	a	0	0	+	+++	·	·	·
	b	0	0	+	+++	·	·	·

Ergebnis: Während der Schutz mittels Seife bei 3 Mäusen gelingt, ist der Erfolg bei Lanolin und Vaseline in diesem Falle ganz negativ.

*) Die Versuchsanordnung zu *a* und *b* ist genau beschrieben in der Druckschrift unter Nr. 1 der Quellenangaben.



fektionsstuben auch außerhalb der militärischen Organisationen für die Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten nutzbar zu machen. Die schwache Stelle dieser Bekämpfungsmethode liegt m. E. darin, daß in den meisten Fällen viel Zeit nach der Infektion ungenutzt verstreicht, ehe die Desinfektion vorgenommen wird und zweitens darin, daß ein gewisser Teil des Publikums aus Bequemlichkeit oder aus Gründen der Diskretion das Aufsuchen dieser Desinfektionsstuben unterläßt. Namentlich der letztere Grund läßt erwarten, daß die Maßregel nur in größeren Städten zur Auswirkung kommen wird.

Es fragt sich nun, wie man sich auf Grund der experimentellen Tatsachen zu der Möglichkeit der nachträglichen Prophylaxe, die man mit englischen Autoren besser als early treatment zu bezeichnen hat, überhaupt zu stellen hat. Bei der Gonorrhöe liegen ausreichende praktische Erfahrungen vor, daß man durch eine sachgemäße und *wiederholte* Abortivbehandlung selbst 24 und 48 Stunden nach der Infektion die Erkrankung verhindern kann. Man hat aber zu bedenken, daß in den Desinfektionsstuben im allgemeinen nur eine *einmalige* Behandlung, und zwar durch Nichtärzte, in Frage kommt. Andererseits dürfte in diesen Fällen die Infektion im allgemeinen nur wenige Stunden zurückliegen, so daß immerhin mit der Wahrscheinlichkeit eines Erfolges bei einer einmaligen Desinfektion gerechnet werden kann. Anders liegen die Verhältnisse bei der Syphilis. Die ersten Experimente von *Metschnikoff* und *Roux*[3]) mit der Kalomelprophylaxesalbe, deren Beweiskraft man nach den neueren Erfahrungen überdies mit einem Fragezeichen versehen muß, hatten ergeben, daß die Erfolge dieser Einsalbung höchstens noch 20 Stunden nach der Infektion bei Affen durch Unterdrückung des Primäraffektes festzustellen waren. *C. Siebert*[4]), der mit einer an sich viel rascher und energischer wirkenden Sublimatgallerte bei Affen arbeitete, verzeichnet in 11 Fällen bei Affen bereits innerhalb 15 Minuten nach der Infektion einen Versager, hatte andererseits aber nach 3, 6 und 24 Stunden noch Erfolg. Ebenso schätzt *Schereschewsky*[5]) die nachträgliche Wirksamkeit seiner Chininprophylaxesalbe auf 5 Stunden und mehr. Schon nach Ablauf von 8 Stunden kann sich nach *Neisser*[9]) eine Excision der Impfstelle als unwirksam erweisen und zu negativen Nachimpfungen der Versuchstiere Veranlassung geben, dagegen andererseits nach 3, 12, 22 und 27 Tagen noch Erfolg haben. Man ersieht aus diesen widersprechenden Ergebnissen, daß diese Frage bei Syphilis noch nicht ganz geklärt ist und einer genauen Bearbeitung bedarf.

Aus Beobachtungen bei experimentellen Infektionen mit anderen pathogenen Spirochäten (Rückfallfieber, infektiöser Ikterus und Gelbfieber) geht hervor, daß bei percutaner Infektion ohne mechanische Verletzung der Haut schon nach Ablauf von 3 und 5 Minuten eine Hautdesinfek-



tion zu spät kommt. Ich habe bei Recurrens an Mäusen solche nachträgliche Schutzversuche mit Lanolinsalben und Gallerten, die im Tierversuch bei vorheriger Anwendung prompt schützten (Sublimat- und Oxycyanatlanolinsalben und -gallerten, Chinin- und Thymolzubereitungen) wiederholt ausgeführt und 30 Minuten nach der Infektion keine zuverlässigen Erfolge mehr erzielt[7]) [vgl. auch die Ergebnisse von *Papamarku*[26])]. Da der percutane Infektionsweg bei der Syphilis anscheinend der gleiche ist wie bei Recurrens- und den anderen Spirochätosen, muß man m. E. mit der Möglichkeit rechnen, daß die Wirksamkeit einer nachträglichen Prophylaxe bei Syphilis zeitlich ebenfalls sehr begrenzt ist. Allerdings ist zuzugeben, daß der exakte Beweis dafür nur durch entsprechende Versuche mit Syphilisspirochäten zu erbringen ist, da von verschiedener Seite (*Neufeld*, *Schereschewsky*) der Einwand gemacht worden ist, daß die Syphilisinfektion, wie schon aus ihrer längeren Inkubationszeit zu erkennen sei, bei weitem nicht so rasch vor sich geht wie es bei den anderen Spirochätosen der Fall ist[8]). Die vorliegenden Schutzversuche, die beweisen sollen, daß bei der Syphilis nachträgliche Desinfektionen noch nach mehreren Stunden von Erfolg sein können, gestatten teilweise insofern keinen zuverlässigen Schluß auf die Verhältnisse beim Menschen, als man sich mit der Feststellung begnügt hat, daß durch die nachträgliche Anwendung der Schutzsalbe der *Primäraffekt* verhindert wurde. Man könnte sich vorstellen, daß beim Menschen durch eine nachträglich einsetzende Salben-„Prophylaxe“ zwar die Inokulationsstelle und die Ausbildung des charakterischen Ulcus noch beeinflußt, dagegen die Allgemeininfektion nicht mehr aufgehalten werden kann (vgl. z. B. den Versuch 482 in der *Siebert*schen Arbeit unter [4]) S. 556). Dieses Bedenken scheint mir besonders begründet, nachdem *Plaut* und *Mulzer*[27]) bei Kaninchen Liquorbefunde nach Hodeninfektion erhoben haben, die für eine Generalisierung des Virus ohne Zustandekommen eines Primäraffektes im Hoden sprechen. Eine nachträgliche Prophylaxe würde also in der Praxis möglicherweise zu einer Syphilis d'emblée führen können, was durchaus unerwünscht wäre. Bei den Schutzversuchen mit der „originären Kaninchensyphilis“, einer Kaninchenspirochätose, die durch Geschlechtsverkehr übertragbar ist, liegt die Sache aber so, daß es sich hier nach allen Erfahrungen im Gegensatz zur echten experimentellen Kaninchensyphilis um eine rein örtliche Erkrankung handelt, bei der eine therapeutische Beeinflussung von der Impfstelle aus natürlich viel leichter ist als bei Spirochätosen, die alsbald auf dem Wege der Lymph- und Blutbahn in den Organismus weiter eindringen[9]). Es scheint mir deshalb gewagt, aus Versuchen bei dieser örtlichen Infektion Schlüsse auf die Möglichkeit einer nachträglichen Prophylaxe bei der menschlichen Syphilis zu ziehen. Wenn in



dieser Hinsicht, wie es bereits *Neufeld*[8]) ausgesprochen hat, die experimentellen Bedingungen bei der Recurrensinfektion der Mäuse vielleicht ungünstiger liegen als bei der Syphilis, liegt es bei der originären Kaninchensyphilis allem Anschein nach umgekehrt, und das ist bei der Entscheidung der vorliegenden Fragen sicher noch weniger erwünscht.

Nach diesen Erwägungen stellt man sich m. E. vorläufig besser auf den Standpunkt, daß die nachträgliche Prophylaxe gegenüber der Syphilis experimentell nicht genügend gesichert ist, da man damit rechnen muß, daß vom Zeitpunkt der Infektion bis zum Besuch der Desinfektionsstube in der Praxis häufig mehrere Stunden verstreichen werden. Die gleichen Bedenken gelten auch für die Schutzbestecke, bei denen eine *nachträgliche* Syphilisprophylaxe anempfohlen wird. Es ist zwar wohl nicht zu bezweifeln, daß auch eine nachträgliche Desinfektion unmittelbar oder bald nach dem Coitus von Erfolg sein kann, aber es liegt m. E. eine Gefahr in der Anweisung, daß die Anwendung der Salbe mehrere Stunden hinausgeschoben werden könne. *Man sollte vielmehr, solange die Bedenken nicht mit aller Sicherheit aus der Welt geschafft sind, eine vorherige oder besser eine vorherige und nachträgliche Behandlung mit der Desinfektionssalbe vorschreiben.* Auf diese Weise lassen sich m. E. auch die Vorzüge der persönlich zu benutzenden Schutzbestecke und der Desinfektionsstuben mit einander verbinden. *Die Anwendung des Salbenschutzes gegen Syphilis erfolge am zweckmäßigsten schon vor dem Beischlaf durch den Schützling selbst, die Prophylaxe gegen Tripper muß dagegen nach dem Beischlaf vorgenommen werden, und zwar je eher, desto besser; aber es ist unbedenklich, sie einige Stunden zu verschieben, um sie zu Hause oder in einer Desinfektionsstube desto gründlicher ausführen zu können.*

Eine weitere Ursache für die Mißerfolge der Schutzbesteckprophylaxe ist darin zu sehen, daß die verwendeten Desinfektionsmittel vielfach nicht die für diesen Zweck erforderliche Leistungsfähigkeit besitzen. Entweder handelt es sich um eine zu langsame oder ungenügende Desinfektionswirkung des betreffenden Mittels, wie es beispielsweise beim Kalomel der Fall und beim Argentum proteinicum der Kriegszeit nachgewiesen ist [*Franck*[10])] oder es liegt an der Zubereitung, die das an sich genügend wirksame Mittel an der Entfaltung einer prompten Desinfektionswirkung hindert, wie es z. B. bei der Verarbeitung mit Vaseline oder ähnlichen, wenig Wasser aufnehmenden Salbengrundlagen der Fall ist. Endlich ist von *Zschucke* und mir nachgewiesen, daß die anfänglich gute Desinfektionswirkung gewisser Schutzmittel in der fertigen Packung nachläßt, wie es sich beispielsweise bei Silber- und Quecksilberpräparaten herausgestellt hat, die in Blei-, Zinn- oder Aluminiumtuben in den Verkehr gegeben wurden. Es treten dabei an der Innenwand der Tube chemische Umsetzungen ein, die den Inhalt in relativ kurzer



Zeit unwirksam machen; diese Veränderung gibt sich nach meinen Erfahrungen äußerlich häufig gar nicht zu erkennen.

Die letzte und sicherlich nicht die unwichtigste Ursache für die Unzulänglichkeit der üblichen Schutzbestecke liegt darin, daß die praktische Brauchbarkeit, auch wenn die Zuverlässigkeit der Wirkung nicht in Frage steht, mancherlei zu wünschen übrigläßt. Wie bereits ausgeführt ist, bringt gerade der außereheliche Geschlechtsverkehr, dem der wichtigste Anteil an der Verbreitung der Seuchen zukommt, häufig Situationen mit sich, die eine sachgemäße Desinfektion unmittelbar vorher oder nachher erschweren. Ich erinnere nur an den Mangel von Waschwasser oder Beleuchtung. Mittel, die auch unter ungünstigen Komfortbedingungen anwendbar sein sollen, müssen unter allen Umständen in gebrauchsfertiger Form zur Hand sein, und zwar so, daß man sie ohne Belästigung jederzeit bei sich führen und durch einen einfachen Handgriff in Gebrauch nehmen kann. Schutzbestecke, die 2 oder gar 3 verschiedene Präparate enthalten, z. B. das französische Präparat *Preventyl*, das in einer Tube ein Silberpräparat gegen Gonorrhöe, in einer zweiten Kalomelsalbe gegen Syphilis und in einer dritten Tube eine Seife für die Generalreinigung enthält, sind schon deshalb unzweckmäßig, weil sie eine gewisse Überlegtheit und Gedankenarbeit voraussetzen, mit der man meist nicht rechnen kann: Die Prophylaxe wird deshalb häufig falsch oder zu spät ausgeführt, oder sie unterbleibt ganz. *Je einfacher ein derartiges Präparat in der Benutzung ist, desto nützlicher wird es sich dem unerfahrenen und weniger gebildeten Manne erweisen, selbst wenn es den theoretischen Forderungen weniger entsprechen sollte als ein zwei- und dreiteiliges Besteck.* Diese Einfachheit dürfte auch auf die Preisfrage günstig einwirken, und das ist auch ein wichtiger Punkt für die Verbreitung von Schutzmitteln.

Experiment und Praxis haben neuerdings auch bewiesen, daß eine wesentliche Vereinfachung der Schutzbestecke möglich ist, da sich herausgestellt hat, daß man zur Gonorrhöeprophylaxe nicht unbedingt Lösungen zu benutzen braucht, sondern auch mit geeigneten salbenartigen Zubereitungen zum Ziele kommt, ja sogar therapeutisch mit solchen Salben auf bestehende gonorrhoische Prozesse einwirken kann (*Neisser* und *Kunitzky*). Ferner hat sich gezeigt, daß man theoretisch die bekannten Gonorrhöeprophylaktica auch als Schutzmittel gegen die Syphilis verwenden könnte, und umgekehrt die Quecksilberpräparate wie Sublimat u. a. auch zur Prophylaxe der Gonorrhöe [*Grosse*[28]), *Schumacher*[1]), *Berg*[14]) *Feibes*[15]) und Verf.[2])]. Es scheint für prophylaktische Zwecke überhaupt gar nicht erforderlich, sich auf die sogenannten Spezifica zu beschränken, sondern es geht anscheinend ebensogut mit anderen Desinfektionsmitteln, sofern die Wirksamkeit und Zubereitung derart ist, daß sowohl auf der äußeren Haut als auch

auf der Genitalschleimhaut eine rasche Keimtötung ohne störende Nebenwirkungen erzielt wird (z. B. Chinin und Sagrotan).

Neben den beiden eben erwähnten grundlegenden Eigenschaften, der raschen Desinfektionswirkung und Unschädlichkeit, muß man an ein Schutzmittel gegen Geschlechtskrankheiten in Erweiterung der bereits 1905 von *Grosse*[28]) aufgestellten Punkte noch die folgenden Forderungen stellen:

Es muß sich in der betreffenden Zubereitung und Verpackung auch unter veränderten klimatischen Bedingungen zeitlich unbegrenzt in der ursprünglichen Beschaffenheit und Wirksamkeit halten; einfach und praktisch im Gebrauch sein, so daß jedermann es ständig bei sich tragen und auch unter mangelnden Komfortbedingungen durch einen einfachen Handgriff in Benutzung nehmen kann; möglichst ungiftig sein, damit man es ohne Gefahr und in Übereinstimmung mit den geltenden Vorschriften über den Handel mit Giften und den Verkehr mit Arzneimitteln auch außerhalb der Apotheken dem freien Handelsverkehr überlassen kann, und schließlich darf es die Wäsche nicht verschmutzen oder einen auffälligen Geruch verbreiten. An einigen Beispielen sei ganz kurz erörtert, inwiefern eine große Zahl der üblichen Prophylaktica diesem Maßstabe nicht entsprechen.

Zunächst das in der Praxis so beliebte übermangansaure Kalium. Nach dem von *Zschucke* und mir[2]) geübten Verfahren der Vergleichsprüfung untersucht, ist bei Gegenwart von Eiweiß die Wirksamkeit einer 1 proz. Lösung dieses Präparates gegenüber Gonokokken ganz unerheblich, denn während eine Lösung von Sublimat oder Hg. oxycyanat. in der Verdünnung $^{1}/_{1000}$ das Gonokokkenwachstum dabei innerhalb 5 Minuten gänzlich aufhebt, ist bei der 10fach stärkeren Lösung von übermangansaurem Kali innerhalb 30 Minuten noch keinerlei Wachstumshemmung zu erkennen. Das Präparat ist mithin nach meiner Ansicht für eine rasche Schleimhautdesinfektion, wie man sie für ein derartiges Schutzmittel braucht, nicht verwendbar. In eiweißfreiem Medium ist der Desinfektionswert des Kal. permang. nach *Flügge* anscheinend größer[11]), dagegen sahen *Schimann* und *Wreschner*[30]) auch von 10 proz. Lösungen im Tierversuch keine Erfolge bei Streptokokken. Dazu kommt, daß man das Mittel schwer gebrauchsfertig in den Handel bringen kann und wegen der Befleckung der Wäsche vorsichtig sein muß. *Als Prophylakticum gegen Gonorrhöe scheint mir Kal. hypermangan. weder wirksam noch praktisch genug zu sein,* worin ich mit *Schumacher*[1]) und *Habermann*[25]) übereinstimme.

Die organischen Silberpräparate zeichnen sich durch einen starken Desinfektionswert gegenüber Gonokokken und auch gegenüber Spirochäten aus, ferner wird ihnen eine große Tiefenwirkung bei der Schleimhautdesinfektion nachgerühmt. Sie lassen sich dagegen nicht leicht in



eine haltbare und praktische Gebrauchsform bringen. Die verschiedenen Tropfgläschen haben sich nicht bewährt, weil die Gummidichtungen beim Lagern unbrauchbar werden, und in den Metalltuben treten Veränderungen des Inhalts ein, die ihn unbrauchbar machen. Man hat deshalb sogenannte Schutzstäbchen erfunden, die in die Harnröhre einzuführen sind und dort durch das Schleimhautsekret zum Zerfall gebracht werden sollen. An sich wäre diese Anwendungsform ganz praktisch, nur ist zu bedenken, daß die Konzentration der wirksamen Substanz in diesen Stäbchen stärker sein muß, als es für wässerige Lösungen notwendig wäre, und daß die Stäbchen, die ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, im Laufe der Zeit (durch Austrocknen?) die Fähigkeit des leichten Zerfalls immer mehr einbüßten. Die beste mir bekannte Gebrauchsform eines Silberpräparates für derartige Zwecke sind kleine olivenförmige, d. h. zu einer Spitze ausgezogene Geloduratkapseln, die eine für einmaligen Gebrauch ausreichende Menge des Mittels enthalten und nach Benutzung fortgeworfen werden. (Duantibesteck der Firma Merck nach *Schereschewsky*). Allerdings vermag ich über die Haltbarkeit dieser Aufmachung nichts auszusagen. Alle Silberpräparate leiden im übrigen unter dem Nachteil, daß sie auf der Wäsche Flecke hinterlassen.

Das bekannteste Schutzmittel gegen Syphilis ist die 33 proz. Kalomelsalbe, die 1905 auf Grund von Affenversuchen durch *Metschnikoff* und *Roux* in die Praxis eingeführt wurde. Kalomel ist ein in Wasser außerordentlich schwer lösliches Quecksilbersalz, dessen desinfektorischer Wirkungsmechanismus so erklärt wird, daß es durch die kochsalzhaltigen Gewebssäfte des Körpers allmählich in Quecksilberchlorid übergeführt wird und so von einem Depot aus eine langsame, aber nachhaltige Sublimatwirkung entfaltet. In dieser Depotwirkung beruhen die in der Therapie bewährten Vorzüge der Kalomeldesinfektion, aber auch die Nachteile: es ist da, wo durch eine einmalige Anwendung auf der Körperoberfläche eine energische rasche Keimtötung erzielt werden soll, wie man es bei einem Prophylakticum erwartet, nicht am Platze, und die überaus starke Konzentration von 33% in der *Metschnikoff*schen Salbe kann diesen Mangel offenbar nicht ausgleichen. *Die experimentelle Vergleichsprüfung hat in Übereinstimmung mit diesen Erwägungen gezeigt, daß die Metschnikoffsche Salbe bei der percutanen Spirochäteninfektion nicht viel sicherer wirkt als eine entsprechende Salbe ohne Desinfiziens, d. h. in der Hauptsache einen mechanischen Schutz verleiht*[2]). Nachdem auch durch verschiedene Versager in der Praxis und Versuche von *C. Siebert* an Affen sowie *Schereschewsky* und *Worms* an Kaninchen das Vertrauen auf die Zuverlässigkeit dieses Schutzes stark erschüttert ist, muß man wohl annehmen, daß *Metschnikoff* und *Roux* bezüglich der günstigen Beurteilung ihrer Versuchs-



ergebnisse einer Täuschung unterlegen sind, deren Ursache man vielleicht in der relativ geringen Anzahl ihrer Affenversuche erblicken kann. Neuerdings scheint man sich auch im Auslande dieser Erkenntnis nicht mehr zu verschließen, denn es ist einmal von dem Engländer Harrison der Vorschlag gemacht worden, die Kalomelsalbe durch Thymolzusatz zu verstärken, ohne daß mir die genaue Angabe dieser Zubereitung bekannt ist[12]), und andererseits hat *Gauducheau*[13]) eine Schutzsalbe angegeben, die außer 25% Kalomel Quecksilbercyanür und Thymol enthält. Auf diese letztere Salbe, die als Einheitsprophylakticum gegen Gonorrhöe und Syphilis empfohlen wird, komme ich später zurück.

Die gleichen Bemerkungen, die über die Kalomelsalben zu machen sind, gelten nach meiner Erfahrung auch für die von deutscher Seite angegebenen Einheitssalben, deren wirksame Substanz das schwerlösliche salicylsaure Quecksilber [15,14]) ist.

Wirksamer als die schwerlöslichen Quecksilbersalze haben sich bei der experimentellen Prüfung Sublimat und oxycyansaures Quecksilber in geeigneter Salbengrundlage erwiesen. Leider wird die praktische Brauchbarkeit der verschiedenen Quecksilberpräparate dadurch sehr beeinträchtigt, daß es bisher nicht gelungen ist, sie in einer haltbaren Gebrauchsform in den Verkehr zu bringen. Sie halten ihre Konsistenz und Wirksamkeit zwar in Glas- oder Porzellanbehältern, aber man muß auf die so bequeme Abfüllung in Zinn- oder Aluminiumtuben verzichten, weil die chemischen Veränderungen, die an der Tubenwandung vor sich gehen, die Wirksamkeit innerhalb kurzer Zeit schädigen. Auch die Versuche, diesen Prozeß durch Überziehen der inneren Tubenwandung mit einer Isolierschicht von Wachs oder Paraffin zu verhindern, haben noch keinen hinreichenden Erfolg gehabt, da offenbar schon kleine Defekte oder Sprünge in dieser Schicht genügen, die Zersetzung einzuleiten. Die Lösung der Frage muß also wahrscheinlich unter Verzicht auf die Benutzung von Metalltuben versucht werden und ist bereits von verschiedenen Seiten in Angriff genommen. Auch die in Deutschland und den meisten anderen Kulturländern bestehenden Verordnungen über den Verkehr mit Giften stehen dem freien Handelsverkehr mit solchen Präparaten hinderlich im Wege*).

*) Im Zusammenhang mit der Erörterung der Quecksilbersalze als Prophylaxe-Mittel ist von *Schumacher*[16]) die Behauptung aufgestellt worden, daß Hg. oxycyanatum als komplexes Salz überhaupt keinen Desinfektionswert habe, da nach der Theorie von *Paul* und *Krönig*[17]) nur solche Quecksilbersalze desinfizieren, die bei der Dissoziation in Wasser Hg-Ionen abspalten, was bei komplexen Salzen nicht der Fall sei. Man könne das bereits daraus erkennen, daß wässerige Lösungen von oxycyansaurem Quecksilber mit Schwefelammonium keine Quecksilberreaktion gäben. Diese letztere Angabe trifft für die verschiedenen Präparate, die ich in der Hand gehabt habe, darunter auch ein laut Angabe chemisch reines Salz

Nach den vorausgegangenen Erörterungen ist, um zusammenzufassen, die bei der Vorbeugung der Geschlechtskrankheiten bislang zutage getretene Unzulänglichkeit der Desinfektionsprophylaxe m. E. in den folgenden 3 Gründen zu suchen:

1. In dem Umstande, daß die Schutzmittel häufig zu spät angewandt werden.

2. Daß sie oft ungenügend wirksam gewesen sind.

3. Daß die Anwendung zu oft ganz unterbleibt, weil sie mit unbequemen und umständlichen Manipulationen verbunden ist, die gerade beim ungeregelten außerehelichen Geschlechtsverkehr auf Schwierigkeiten stoßen.

Was zunächst den letzten Punkt anlangt, *so kann m. E. die durchaus notwendige Vereinfachung, Verbilligung und Gebrauchsverbesserung nur durch sogenannte Kombinationspräparate erzielt werden, die den Schutz gegen die beiden wichtigsten Geschlechtskrankheiten Syphilis und Tripper in einem Mittel vereinigen.* Ein solches Mittel kann keine Substanz sein, die man sich erst vor dem Gebrauch fertigmachen muß (etwa durch Auflösen in Wasser) und ebensowenig eine gebrauchsfertige Lösung, die man in den zu desinfektorischen Waschungen benötigten Mengen wegen der Transportschwierigkeiten doch nicht jederzeit bei sich tragen könnte. Namentlich mit Bezug auf den Schutz der äußeren Haut gegen Syphilis kommen vornehmlich Zubereitungen in einer salbenförmigen Grundlage in Betracht. Da solche Salben nicht nur bei der Einreibung in die Haut, sondern auch bei der Applikation auf die sezernierende Schleimhaut die inkorporierte wirksame Substanz rasch freigeben müssen, eignen sich als Grundlage Fette und Öle mit *geringer* Aufnahmefähigkeit für Wasser nicht, weil sie die Wirksamkeit aller Desinfektionsmittel stark verlangsamen und eine sehr geringe Fähigkeit zur Mischung mit den eiweißhaltigen Schleimhautsekreten haben. Besser eignen sich Salbengrundlagen mit hoher Aufnahmefähigkeit für Wasser (Lanolin und Eucerin), die mit schleimigen Sekreten leicht emulgieren, oder die schleimigen und gallertigen Salbengrundlagen, die von der Haut gut resorbiert werden; letztere sind gegenüber den Fettsalben insofern etwas im Nachteil, als sie die Epithelschichten nicht auch mechanisch gegen das Eindringen von Spirochäten schützen, wie ich nachgewiesen habe. *Die geeignetste Salbengrundlage für diese Zwecke scheint mir auf Grund experimenteller Untersuchungen aber Seife zu sein, die in dieser Beziehung die Vorzüge der*

der Saccharinfabriken vorm. Fahlberg-List in Magdeburg, nicht zu. Die Theorie der Desinfektionswirkung bei den Quecksilbersalzen ist, wie aus einer neueren Arbeit von *Gegenbauer*[19]) hervorgeht, durchaus nicht so geklärt, wie *Schumacher* es auf Grund der *Paul-Krönig*schen Arbeit, die im Jahre 1897 geschrieben ist, anzunehmen geneigt ist. Auf diesen Punkt hat *Neufeld* in seiner Erwiderung an *Schumacher* bereits hingewiesen[20]).

Schleime und Fettsalben vereinigt. Schon *Neufeld* und *Händel*[21]) haben nachgewiesen, daß Ölseifen in geringer Konzentration (1 proz. Lösungen von Natr. oleinic.) starke Spirochätengifte sind und Hühnerspirochäten zur Auflösung bringen. Die beiden Autoren haben auf die Möglichkeit einer praktischen Verwertung dieser Eigenschaft auch bereits aufmerksam gemacht. Auch *Buschke*[30]) hat aus praktischen Gesichtspunkten bereits auf die Verwendung von Wasser und Seife für die Prophylaxe hingewiesen. Wie ich mich überzeugt habe, tritt diese Auflösung durch Seifen auch bei Recurrens- und Syphilisspirochäten ein. Dementsprechend kann man, wie ich gefunden habe, Mäuse mittels Einreibung von Seifen ohne Zusatz eines weiteren Desinfiziens ziemlich sicher gegen eine nachträgliche percutane Recurrensinfektion schützen. Es genügen dabei schon Zubereitungen, die etwa 2% Seife enthalten. In dem auf der Tab. Ib mitgeteilten Kontrollversuch wurden mittels einer 5 proz. Zubereitung von Sapo medicatus alle Versuchstiere geschützt, während in dem gleichen Versuch der Vaselin- und Lanolinschutz infolge der Virulenz des Virus vollkommen versagte. Auch das Wachstum von Gonokokken wird innerhalb 5 Minuten durch Zusatz von 2% ölsaurem Natrium zu serumhaltigen Nährflüssigkeiten aufgehoben, wobei man feststellen kann, daß die Seifenlösung mit der eiweißhaltigen Nährflüssigkeit sogleich eine schöne Emulsion bildet (vgl. Tab. Ia). *So scheinen mir Seifen in geeigneter salbenartiger Konsistenz eine sehr zweckmäßige Grundlage für prophylaktische Kombinationssalben zu sein, natürlich unter der Bedingung, daß die sonstigen Vorzüge einer Salbe bei der Zubereitung gewahrt bleiben.* Dies sowie die Zuverlässigkeit der Desinfektionswirkung muß bei jedem Präparat besonders ausprobiert und geprüft werden, und zwar muß die Prüfung in der für den Verkehr bestimmten Gebrauchsform des Präparates stattfinden, damit sichere experimentelle Grundlagen für die Berechtigung der Anwendung in der Praxis geschaffen werden. Die Notwendigkeit dieser experimentellen Prüfung hat *Blaschko*[22]) gelegentlich einer ausführlichen Besprechung der persönlichen Prophylaxe auf der letzten Tagung der Deutschen Gesellschaft zur Bekämpfung der Geschlechtskrankheiten als Leitsatz aufgestellt, worauf die Versammlung beschloß, einen gemischten Ausschuß mit dieser Prüfung zu beauftragen.

Es wird Sache dieses Ausschusses sein, unter den verschiedenen neuerdings angegebenen Prüfungsverfahren für diesen Zweck die geeignetsten auszuwählen. Während für die Prüfung von Schutzmitteln gegen Gonorrhöe leider noch ein brauchbarer Tierversuch fehlt. sind für die Prüfung von Schutzmitteln gegen Syphilis 4 Verfahren angegeben worden. Zunächst das von *Metschnikoff* und *Roux*, *Neisser*, *Siebert*, *Schereschewsky* und *Hügel* benutzte Affenexperiment, bei dem durch tiefe Scarificationen an den Augenbrauen und Einreibung des



Infektionsmaterials ein Primäraffekt gesetzt und gleichzeitig oder nach gewisser Zeit das Schutzmittel angewandt wird. Zweitens die Impfsyphilis bei Kaninchen, die vor dem erstgenannten Verfahren zwar den Vorzug der geringeren Kostspieligkeit hat, aber andererseits darin im Nachteil ist, daß die Infektion von der Haut oder Schleimhaut aus bei Kaninchen nicht regelmäßig genug gelingt. *Schereschewsky* und *Worms* sind deshalb so vorgegangen, daß sie die zu prüfenden Schutzmittel auf manifeste Hoden- oder Scrotumschanker einwirken ließen und die mikrobicide Tiefenwirkung durch Capillarpunktion im Dunkelfeld feststellten. Besser den natürlichen Infektionsbedingungen angepaßt ist die dritte ebenfalls zuerst von den beiden letztgenannten Autoren angegebene Methode, die sich der sogenannten originären Kaninchensyphilis bedient, einer Spirochätose, die durch den Geschlechtsverkehr übertragbar ist und zu örtlichen Entzündungen und Geschwüren an den Genitalien und am After führt. Bei diesem Verfahren sehe ich einen nicht unwichtigen Mangel darin, daß es sich bei dieser Kaninchentreponemose aller bisheriger Erfahrung nach um örtliche Krankheitsprozesse handelt, die wenig Neigung zu einer Generalisierung auf dem Lymph- und Blutwege zeigen, während die Syphilisspirochäten offenbar auch beim Kaninchen über Erwarten rasch in die Lymphbahnen und Drüsen vordringen, wie aus neueren Arbeiten von *Brown* und *Pearce*[24]) hervorgeht. Die genannten Forscher verfügen über einen Pallidastamm, der bei Kaninchen nach Hodenimpfung generalisierte Erscheinungen verursacht. Wenn sie 2 Tage nach einer Hodenimpfung den infizierten Hoden und das Scrotum amputierten, so konnten sie die Entstehung einer Hodensyphilis auf der ungeimpften Seite und die anderen Sekundärerscheinungen nicht mehr verhindern. Diese Beobachtung mahnt an entsprechende Erfahrungen bei anderen pathogenen Spirochäten (Recurrens, *Weil*sche Krankheit), daß diese Mikroorganismen auch durch die Haut und Schleimhaut über Erwarten rasch hindurchwandern und in den Säftestrom gelangen.

Dieser Umstand läßt sich bei der vierten und letzten Methode in einfacher Weise berücksichtigen, die sich der percutanen Recurrensinfektion bei Mäusen bedient. Die Möglichkeit der Percutaninfektion durch die makroskopisch unverletzte Haut hindurch wurde von mir 1908 erwiesen und nebst der angewandten Versuchsanordnung (bei Ratten) in den Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt mitgeteilt (Bd. 27, S. 331). Diese Versuchsanordnung hat *Papamarku*[25]) 1920 zur Prüfung einiger zum Schutz gegen die syphilitische Ansteckung empfohlener Desinfektionsverfahren unter Verwendung von Mäusen benutzt, und später haben dann *Zschucke* und ich[26]) die Ergebnisse unserer planmäßigen Durchprüfung verschiedener im Verkehr befindlicher Schutzmittel gegen Gonorrhöe und Syphilis mit demselben Verfahren be-

kanntgegeben. Auch diesem Verfahren haften natürlich Nachteile an, aber da es bei der Prüfung derartiger Schutzmittel praktisch in erster Linie darauf ankommt, die offensichtlich nutzlosen auszuschalten, halte ich vorläufig die letztgenannte Methode für die einfachste, billigste und zuverlässigste, besonders deshalb, weil sie darüber Aufschluß gibt, ob es mit dem zu prüfenden Mittel gelingt, von der Haut aus eine Einwanderung von Spirochäten in den Säftestrom zu verhindern. Wenn die Prüfungsbedingungen hier in mancher Beziehung schwerer liegen mögen als bei der Syphilis, so muß man sich wohl gegenwärtig halten, daß dieser Umstand für den gedachten Zweck ein geringeres Übel bedeutet, als wenn das Umgekehrte der Fall ist. Denn gerade auf solche Weise entsteht die Gefahr, daß experimentell erprobte Prophylaktica in den Verkehr gelangen, die erst nach jahrelangem Gebrauch in der Praxis allmählich als unbrauchbar erkannt werden.

So wird beispielsweise neuerdings von *Gauducheau*[13]) ein Kombinationspräparat auf Grund sorgfältiger experimenteller Prüfung empfohlen, und zwar teilt der Autor 4 verschiedene Versuche mit, die seine Zuverlässigkeit beweisen sollen. Die Salbe ist folgendermaßen zusammengesetzt:

Quecksilbercyanür	0,075 g
Thymol	1,750 g
Kalomel	25,000 g
Lanolin	50,000 g
Vaseline ad	100,000 g

Die im Protokollauszug (Tabelle II) wiedergegebenen Ergebnisse meiner Prüfung lassen es durchaus unratsam erscheinen, diese Salbe zur Prophylaxe gegen Gonorrhöe und Syphilis beim Menschen zu verwenden, da es nur bei einem von 5 Versuchstieren vollkommen gelang, die Blutinfektion zu verhindern. Auch gegenüber Gonokokken ließ sich nach 30 Minuten noch keine Wirkung feststellen. Die zum Vergleich bei diesem Versuch herangezogene Thymolsalbe einer deutschen Firma hat sich jedenfalls bei dieser Vergleichsprüfung durchaus wirksamer gezeigt als jene gleichzeitig 3 Desinfektionsmittel enthaltende Salbe.

Tabelle II. a) Schutzmittelprüfung in vitro mit Gonokokken.

nach	5′	10′	15′	30′
1. Kalomel-Thymolsalbe n. *Gauducheau*	+++	+++	+++	+++
2. Thymolsalbe „H“	0	0	0	0
3. Lanolin-Kontrolle	+++	+++	+++	+++
4. Kontrolle ohne Zusatz von Salbe	+++	+++	+++	+++

Ergebnis: In dem Kontroll- und Lanolinkölbchen bis 30′ ungehemmtes Wachstum. Das gleiche in dem mit Kalomel-Thymolsalbe nach *Gauducheau* versetzten Kölbchen, während in dem mit Thymolsalbe „H“ versetzten Kölbchen bereits nach 5 Minuten das Wachstum aufgehoben ist.



Tabelle II. b) Schutzmittelprüfung in vivo mit Recurrensspirochäten.

	nach	3	4	5	6	7	9	Tagen
Unbehand. Kontrollen (5 Mäuse)	a	+	+++	†	·	·	·	
	b	+	+++	+++	getötet	·	·	
	c	0	0	+	+++	+++	0	
	d	0	+	++	+++	0	0	
	e	0	+	++	0	0	0	
Vaseline - Kontrollen (5 Mäuse)	a	0	0	+	++	0	0	
	b	0	0	0	0	0	0	
	c	0	0	+	0	0	0	
	d	0	0	0	+	+	0	
	e	0	+	++	0	0	0	
Kalomel-Thymolsalbe n. *Gauducheau* (5 Mäuse)	a	0	0	0	0	+	0	
	b	0	0	+	0	+	0	
	c	0	0	0	0	0	0	
	d	+	++	0	0	0	—	
	e	+	0	+	0	0	0	
Thymolsalbe „H" (5 Mäuse)	a	0	0	0	0	0	0	Nachinfekt. positiv
	b	0	0	0	0	0	0	
	c	0	0	0	0	0	0	
	d	0	0	0	0	0	0	
	e	0	0	0	0	0	0	

Ergebnis: Die 5 unbehandelten Kontrolltiere sind sämtlich erkrankt. Von 5 mit Vaseline vorbehandelten Tieren ist nur eins ***vollkommen*** parasitenfrei geblieben. Von 5 mit Kalomel-Thymolsalbe nach *Gauducheau* vorbehandelten Tieren ist nur eins vollkommen parasitenfrei geblieben. Von 5 mit Thymolsalbe behandelten Tieren ist keins infiziert.

Die französische Salbe mischt sich mit eiweißhaltigen Medien sehr mangelhaft, so daß die wirksamen Substanzen unmöglich so rasch in Wirksamkeit gesetzt werden können, wie es für die rasche Desinfektion einer sezernierenden Schleimhaut notwendig ist. Dieser Umstand ist wohl auch der Grund dafür, daß die Salbe keinerlei Reizwirkung auf der Schleimhaut ausüben soll, was bei dem hohen Gehalt von 1,75% Thymol anders nicht möglich wäre*).

Um den ersten der oben erwähnten Gründe für das Versagen der chemischen Prophylaxe, nämlich die zu späte Anwendung, auszuschalten, halte ich, bis weitere experimentelle Feststellungen meine Bedenken behoben haben, daran fest, *daß es ratsam ist, in den Anweisungen die Prophylaxe gegen Syphilis vor dem Beischlaf vorzuschreiben und die Prophylaxe gegen Gonorrhöe möglichst bald nach dem Beischlaf vornehmen zu lassen. Dabei kann zur Sicherheit die äußerliche Salbendesinfektion noch einmal wiederholt werden.*

---

*) Die deutsche pharmazeutische Industrie hat bereits eine ganze Reihe von Kombinatiospräparaten zur Prophylaxe der Geschlechtskrankheiten hervorgebracht, deren praktische Erprobung angezeigt wäre.

Literaturverzeichnis.

[1]) *Grotjahn*, Diskussionsbemerkung. Sitzungsbericht der am 30. IX. und 1. X. 1921 abgehaltenen Sachverständigenkonferenz innerhalb des Ausschusses der D. G. B. G. Die Verhütung der Geschlechtskrankheiten durch Selbstschutz. Verlag Walter Fiebig, Berlin 1922. — [2a]) *Manteufel, P.*, und *Zschucke, H.*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 2. — [2b]) *Manteufel*, Hyg. Rundschau, Nr. 1921, Beilage 5. — [3]) *Metschnikoff, El.*, und *E. Roux*, Annales de l'inst. Pasteur **17**. 1903 u. **19**. 1905. [4]) *Siebert, C.*, Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt **37**. 1911. — [5]) *Schereschewsky, J.*, Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 44. — [6]) *Neisser, A.*, zit. nach G. Steiner, Experimentelle Syphilis. Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychol. Ref. **20**, 263. 1920. — [7]) *Manteufel, P.*, Referat in Nr. 1. — [8]) *Neufeld, F.*, Diskussionsbemerkung in Nr. 1. — [9]) *Neisser, A.*, Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt **37**, 1911, S. 128. — [10]) *Franck*, Diskussionsbemerkung zu Nr. 2b. — [11]) *Flügge, C.*, Grundriß der Hygiene 8, Aufl. 1915. — [12]) Prevention of venereal diseases London. Williams and Norgate 1921. — [13]) *Gauducheau*, Revue d'hygiene **43**. 1921. — [14]) *Berg*, Berl. klin. Wochenschr. 1921, S. 722. — [15]) *Feibes, E.*, Die Krankenpflege **2**. 1902/03. — [16]) *Schumacher, J.*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 22. — [17]) *Paul* und *Krönig*, Zeitschr. f. Hyg. **25**. 1897. — [18]) *Neufeld* und *Karlbaum*, Zeitschr. f. Hyg. **91**. 1921. — [19]) *Gegenbaur*, Arch. f. Hyg. **90**. 1921. — [20]) *Neufeld*, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 26. — [21]) *Neufeld, F.*, und *L. Händel*, Arbeiten aus der Reichsgesundheitsamt **28**. 1908. — [22]) *Blaschko*, Ref. in Nr. 1. — [23]) *Schereschewsky* und *Worms*, Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 5, S. 103; *Schereschewsky*, Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 32, S. 752; 1920, Nr. 48. — [24]) *Brown Wade* and *Louise Pearce*, Journ. exp. Med. **34**. 1921. — [25]) *Habermann, R.*, Dtsch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 10. — [26]) *Papamarku*, Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 31. — [27]) *Plaut, F.*, und *P. Mulzer*, Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 14. — [28]) *Grosse, O.*, Münch. med. Wochenschr. 1905, Nr. 21 u. 45. — [29]) *Schiemann, O.*, und *Wreschner*, Zeitschr. f. Hyg. **95**. 1922. — [30]) *Buschke*, Diskussionsbemerkung unter 1.



(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. *B. Heymann*].)

Der Einfluß von Wandkonstruktion und Heizung auf die Wärmeökonomie von Gebäuden in hygienischer und wirtschaftlicher Beziehung[1].

(Zweite Mitteilung.)

Von

A. Korff-Petersen, Abteilungsvorsteher am Institut. und **W. Liese,** Assistent am Institut.

Mit 5 Textabbildungen.

Die Beobachtungen an fertigen Häusern sowie die Laboratoriumsversuche, über die wir in unserer ersten Mitteilung berichteten, hatten gezeigt, daß Wärmeleitzahlen, seien sie aus rein physikalischen Versuchen oder unter Berücksichtigung praktischer Erfahrung gewonnen, bei der Beurteilung von Wohnräumen vom hygienischen Standpunkte aus für sich allein nicht befriedigen. Die Wärmedurchgangsberechnungen der Heiztechnik, die sich auf diese Wärmedurchgangszahlen stützen, dienen auch ganz anderen Zwecken als sie der Hygieniker verfolgt. Sie sollen es ermöglichen, Berechnungen anzustellen, auf Grund derer die Abmessung der Heizeinrichtungen so vorgenommen werden kann, daß sie auch bei großer Kälte ausreichen. Wir dagegen wollten untersuchen, welche Bauart der Wände bei möglichst geringem Wärmeverbrauch eine möglichst angenehme und gleichmäßige Temperatur ergäbe, bei der die Wärmeregulation des menschlichen Körpers möglichst ungestört vor sich gehen kann. Dabei hatte es sich gezeigt, daß hierfür keineswegs die *Wärmeleitzahl* den Ausschlag gibt, daß vielmehr die *Bemessung und Anordnung der Wärme speichernden Schichten zu den schlecht wärmeleitenden* von größter Bedeutung ist. Bei geringem Speicherungsvermögen des Heizkörpers und Vorhandensein eines größeren Wärmespeichers an der Innenseite der Wände ergab sich — wie zu erwarten — eine lange Anheizperiode, aber auch nach Beendigung der Heizung eine langsame Abkühlung. Befand sich dagegen an der Innenseite der Wand eine schlecht wärmeleitende Schicht, so erwärmte sich der Raum sehr schnell, um aber ebenfalls sehr schnell wieder abzukühlen.

[1]) Die Arbeit wurde mit Unterstützung aus der Gräfin-Bose-Stiftung durchgeführt.



I. Wie kann die zeitliche Gleichmäßigkeit der Temperatur erreicht werden?

Wenn wir als Hygieniker eine räumlich und zeitlich möglichst gleichmäßige Wohnraumtemperatur fordern, so müssen wir uns die Frage vorlegen, auf welche Weise die Gleichmäßigkeit am ökonomischsten zu erreichen ist. Die Gleichmäßigkeit kann auf verschiedene Weise angestrebt werden. Die Wärme kann 1. in den Wänden oder 2. in einem besonderen Wärmereservoir (Kachelofenprinzip) gespeichert werden, um dann in der Heizpause dem Raume zugute zu kommen. Oder man kann 3. zum Anheizen zunächst dem Raume eine größere Wärmemenge direkt zuführen und, nachdem die gewünschte Temperatur erreicht ist, mit kleinen Wärmemengen weiterheizen. (Dauerbrandprinzip.)

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob es gleichgültig ist, welche von den drei Arten zur Anwendung gelangt, oder ob und gegebenenfalls, welche von ihnen in ökonomischer oder hygienischer Hinsicht den Vorzug verdient.

Unsere Versuche hierüber nahmen wir an dem in unserer ersten Mitteilung (Zeitschr. f. Hyg. **93**, 427) beschriebenen Modell vor. Wenn auch derartige Laboratoriumsversuche nicht ohne Einschränkung auf die Praxis übertragen werden können, so glauben wir doch berechtigt zu sein, weitergehende Schlüsse daraus zu ziehen, da die Ergebnisse der Beobachtungen an Häusern und die unserer Laboratoriumsversuche recht gut übereinstimmten.

Die gespeicherte Wärme kann auf zwei Arten das Absinken der Temperatur verhindern.

Was zunächst den Nutzen der in den Wänden aufgespeicherten Wärme anlangt, so kann diese der Raumluft wieder zugute kommen dadurch, daß ein Teil der Wärme ihr unmittelbar wieder zuströmt. Sie kann aber auch ohne Rückstrom den Innenraum längere Zeit auf höherer Temperatur halten.

Es soll einmal untersucht werden, unter welchen Umständen überhaupt damit gerechnet werden kann, daß ein teilweiser Rückstrom der in den Wänden aufgespeicherten Wärme an die Raumluft erfolgt. Dies ist dann der Fall, wenn die Luft des Raumes eine tiefere Temperatur annimmt als die Innenoberfläche der Umfassungswände oder eines Teiles von ihnen. Es soll davon abgesehen werden, daß der Raumluft durch Zuführung kühler Außenluft, d. h. durch die auch bei geschlossenen Fenstern nie ganz aufgehobene Ventilation, Wärme entzogen wird. Vielmehr soll angenommen werden, daß es sich um einen völlig abgeschlossenen Raum handele. Ist dann der Wärmedurchgang durch alle Begrenzungswände gleich und ebenso die Temperatur an allen Punkten der Wandoberflächen und desgleichen die Wärmeübergangsverhältnisse, so ist das Wärmegefälle, nachdem die Innenluft entsprechend höher als



die Außenluft erwärmt ist und die Heizung aussetzt, an allen Stellen immer von innen nach außen gerichtet, da keine Stelle vor der anderen bevorzugt ist. Einen derartigen Körper gibt es aber in Wirklichkeit nicht, vielmehr findet in Wohnräumen der Abfluß der Wärme immer vorwiegend an bestimmten Stellen, Türen, Fenstern usw. statt. Es kommt jetzt darauf an, das Verhältnis festzustellen, in welchem die durch die Wände abfließende Wärme zu der auf andere Weise abfließenden stehen muß, damit ein Rückstrom zur Innenluft stattfindet. Am einfachsten versinnbildlichen wir uns die Verhältnisse, wenn wir uns die in der Luft und in den Wänden aufgespeicherte Wärmemenge als zwei miteinander kommunizierende Wasserreservoire vorstellen, die außerdem jedes einen Abfluß nach außen haben. Solange das Niveau in beiden Reservoiren dieselbe Höhe hat, kann ein Überströmen der Flüssigkeiten von einem Reservoir in das andere nicht stattfinden. Sobald aber in dem einen Gefäß die Höhe des Wasserspiegels größer ist als in dem anderen, wird eine Strömung von dem einen in das andere erfolgen. Wir haben nun zu berechnen, wie das Verhältnis der aus jedem Gefäß nach außen abfließenden Wassermenge sein muß, damit die Höhe immer gleich bleibt.

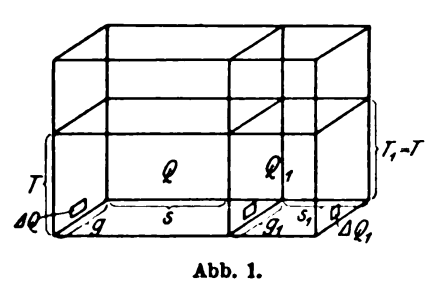


Abb. 1.

Es sei Q die Wassermenge des einen und Q_1 die des anderen Gefäßes, $g\,s$ bzw. $g_1\,s_1$ die Grundfläche und $T = T_1$ die Niveauhöhe der Gefäße. Dann ist (1) $Q = g\,s\,T$ und (2) $Q_1 = g_1\,s_1\,T$. Wird nun die Niveauhöhe in beiden Gefäßen um dasselbe Stück ΔT verringert, so muß aus dem Gefäß Q die Menge ΔQ und aus dem Gefäß Q_1 die Menge ΔQ_1 abfließen. Dann ist

$$s\,g\,(T - \Delta T) = Q - \Delta Q$$

$$\text{und}\quad s_1\,g_1\,(T - \Delta T) = Q_1 - \Delta Q_1$$

Hieraus folgt durch Division und Substitution aus Gleichung (1) und (2)

$$\frac{\Delta Q}{\Delta Q_1} = \frac{s\,g}{s_1\,g_1}$$

Das heißt: Die Niveauhöhe der beiden Gefäße ändert sich nicht, wenn die aus jedem ausfließende Wassermenge zueinander im Verhältnis der Grundflächen stehen.

Ist dagegen

$$\Delta Q > \frac{s\,g}{s_1\,g_1}\,\Delta Q_1\,,$$

so wird ein Überströmen von Q_1 nach Q, und ist

$$\Delta Q < \frac{s\,g}{s_1\,g_1}\,\Delta Q_1\,,$$

ein Strom in umgekehrter Richtung stattfinden.



Übertragen wir die Überlegungen auf die Wärmeverhältnisse. Bei Temperaturgleichheit zwischen dem Wärmereservoir in den die Raumluft unmittelbar begrenzenden Mauerteilen und der Raumluft ist der Wärmeinhalt des Wärmereservoirs $Q = s\,g\,T$, wenn s = spezifische Wärme, g = Gewicht der Mauersubstanz in kg und T die absolute Temperatur ist. s_1, g_1 würden dann spezifische Wärme bzw. Gewicht der Raumluft bedeuten [1]). Ein Rückstrom der in den Wänden aufgespeicherten Wärme zur Raumluft wird stattfinden, wenn der Wärmeverlust der an die Innenluft grenzenden Mauerteile an die Außenluft bzw. an kältere Mauerteile kleiner ist als das Produkt aus dem Gesamtwärmeverlust der Raumluft und dem Quotienten aus spezifischer Wärme und Gewicht der Wandschicht, dividiert durch spezifische Wärme und Gewicht der Raumluft.

Die Größe der von den Mauern an die Innenluft abgegebenen Wärmemenge hängt ab von der Temperaturdifferenz $t_w - t_i$ zwischen Wandoberfläche und Innenluft, der Größe der Innenoberfläche der Wände und der Wärmeübergangszahl.

Es läßt sich also berechnen, bei welcher Größe der Fenster und Türöffnungen und sonstiger stärker wärmedurchlässigen Stellen in einem gegebenen Gebäude überhaupt Wärme von den Wänden an die Raumluft abgegeben wird.

Nehmen wir einen Raum von den Abmessungen [2]) $4 \cdot 4{,}5 \cdot 2{,}5$ an, von dessen vier seitlichen Begrenzungsflächen zwei Außenwände aus Ziegeln in der Stärke von 25 cm mit einem Fenster von 3 qm Fläche seien, während die beiden anderen an Räume grenzen, deren Temperatur gleich der des gedachten Raumes sei. Dann findet durch diese beiden Wände kein Wärmeaustausch statt. Der Einfachheit halber sei ferner angenommen, daß auch der darüber und darunter gelegene Raum die gleiche Temperatur wie der erste Raum habe, so daß auch durch Decke und Fußboden kein Wärmeaustausch stattfindet. Es sei zunächst der Beharrungszustand angenommen, und zwar betrage die Temperatur der Raumluft $+ 20°$, die der Außenluft $\pm 0°$.

Für den gedachten Fall ist der Wärmeinhalt der Raumluft $s_1 g_1 T = 14\,T$. ($T = 273 + 20°$ C.) Unter Voraussetzung des Beharrungszustandes ist der Wärmeverlust des Raumes $W = K \,.\, F\,(t_i - t_a) + K_1 F_1\,(t_i - t_a) \backsim 920$ WE/Std., wobei K und K_1 die Wärmedurch-

[1]) Die obige Gleichung ist nur in Annäherung richtig. Da sich die spezifische Wärme mit der Temperatur ändert, mußte sie genauer lauten: $Q = g\int_0^T s\,dT$. Für unsere Zwecke reicht die Annäherung aber aus.

[2]) Die Annahmen dieses Rechenbeispiels entsprechen den Abmessungen der in Steglitz untersuchten Kleinhäuser, über die wir in der 1. Mitteilung berichtet haben.

gangszahlen der Mauern bzw. des Fensters und F bzw. F_1 die betreffenden Flächen sind. Der Wärmeverlust der der Innenluft angelagerten Wandschicht an die nächstliegenden Wandschichten ist $K \cdot F\,(t_i - t_a)$ $\backsim$ 620 WE/Std. Es wäre also der Wärmeverlust der Raumluft $\Delta Q_1 = 920$, der des Wärmereservoirs in den Mauern $\Delta Q = 620$. Da $s_1\, g_1 = 14$ ist, ist, so muß $s\,g$, wenn kein Rückstrom von Wärme eintreten soll, $= \frac{620}{920} \cdot 14 = 9{,}44$ werden. Nimmt man die spezifische Wärme des Mauerwerks zu 0,2 an, so muß sein Gewicht gleich 47,2 kg sein. Da die Oberfläche des Mauerwerks 39,5 qm und das spezifische Gewicht etwa 1,5 ist, so muß die Dicke der Schicht 0,0008 m sein. Würde also bei den vorher beschriebenen Verhältnissen die oberflächliche Wandschicht bis zu einer Tiefe von etwa 1 mm sich auf die Raumtemperatur erwärmen, so würde beim Aussetzen der Heizung bereits ein Rückstrom von Wärme aus den Mauern zur Raumluft stattfinden. Dies zeigt, daß in der Wirklichkeit während der Heizpause wohl immer ein Wärmestrom aus den Mauern zur Raumluft stattfinden wird. Ein Wärmegefälle von innen nach außen wird also meist nur während des Betriebes der Heizeinrichtung vorhanden sein.

Aber auch, wenn die Innenluft überhaupt keine Wärmeverluste durch Fenster usw. hätte, vielmehr der Wärmeaustausch lediglich durch die Außenwände erfolgte, ein Rückstrom von Wärme also ausgeschlossen wäre, würde ein Raum, in dessen Wänden viel Wärme gespeichert ist, sich doch länger auf einer höheren Temperatur halten als ein gleich hoch temperierter Raum mit weniger Wärmespeicherung, da eben sein Wärme*vorrat* ein größerer ist. Freilich wird bei nicht isolierten Mauern im ersten Falle absolut mehr Wärme an die Außenluft abgegeben und demgemäß mehr Wärme aufzuwenden sein, um den Wärmespeicher wieder aufzufüllen, so daß, wie *Gramberg*[1]) nachweist, es vom rein *heizungstechnischen* Standpunkte vorteilhafter ist, Räume mit wenig speichernden Wänden zu bauen und sie sich ruhig während der nächtlichen Heizungspause tief abkühlen zu lassen. Hiergegen bestehen aber, wenn es sich um Räume zum dauernden Aufenthalt von Menschen handelt, große *hygienische* Bedenken. Der rasche Temperaturabfall in solchen Räumen wird von den Bewohnern nicht nur unangenehm empfunden, sondern kann auch zu schweren Erkältungskrankheiten führen. Wir dürfen daher von der Forderung nicht abgehen, daß ein Wärmevorrat vorhanden sei, aus dem bis zum Beginn des neuen Heizens der Wärmeverlust zu einem beträchtlichen Teile gedeckt wird.

II. Orientierende Versuche über Anordnung der Wärmespeicher.

Es muß also unsere Aufgabe sein, durch geeignete Anordnung von Wärmespeichern in der Wand oder in der Heizeinrichtung und von

[1]) Heizung und Lüftung von Gebäuden. Berlin 1909. S. 122.



Wärmeschutzstoffen, oder durch geeigneten Heizungsbetrieb die divergierenden Interessen des Heizungstechnikers und des Hygienikers einander zu nähern.

Wir haben nun versucht, Anhaltspunkte hierfür auf experimentellem Wege zu erhalten, und zwar zielten unsere ersten Versuche darauf ab, festzustellen, wie sich die Anheiz- und Abkühlungszeit bei verschiedenartiger Anordnung des Wärmespeichers zu den schlecht wärmeleitenden Schichten verhielt sowie dann, wenn nach dem Anheizen der Raumluft noch weiter Wärme in kleinen Mengen zugeführt wurde.

Über einige Versuche, die wir an unserem schon erwähnten Laboratoriumsmodell vornahmen, ist in unserer ersten Mitteilung S. 428ff. bereits berichtet. Das Ergebnis weiterer Versuche ist mit diesen zusammen in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Tabelle enthält eine Übersicht über die zum Anheizen des Versuchskastens bis zu einer Temperaturdifferenz zwischen Kasteninnen- und außen-(Zimmer-)luft von etwa 13,5° verbrauchten Wärmemenge (Spalte 4) Spalte 5 enthält die Wärmemenge, welche während der in Spalte 6 angegebenen Zeit (Minuten) dem Raume weiterhin zugeführt wurde, während in Spalte 7 die Temperaturdifferenz verschieden lange Zeit nach Aussetzen der Wärmezufuhr angegeben ist. Die Zeit wurde dabei von dem Augenblicke an gezählt, wo die Differenz wieder 13,5° betrug.

A. Ein Vergleich des Versuches II, bei dem ein großer Teil der zugeführten Wärme zur Durchwärmung der Wände diente, mit Versuch VI, bei welchem nur wenig Wärme in den Wänden gespeichert wurde, hatte ergeben, daß bei Wärmespeicherung in den Wänden die Abkühlungszeit erheblich verlängert und somit die vom hygienischen Standpunkt wünschenswerte größere Gleichmäßigkeit der Raumtemperatur erreicht wird, selbst wenn bei den wärmespeichernden Wänden die Wärmedurchgangszahl am größten war (vgl. Zeitschr. f. Hyg. 93, 431).

B. Es fragt sich aber, ob es nicht doch eine Verschwendung ist, die Wärme zunächst in den Wänden zu speichern, um sie erst in der Abkühlungsperiode nutzbar werden zu lassen. Vielleicht könnte es zweckmäßig sein, die Wände möglichst *wenig speichernd* zu machen und durch *langsames Weiterheizen* nach Erreichung der gewünschten Innentemperatur die Wärme der Innenluft konstant zu halten. Hierüber sollen die Versuche V und VIII Aufschluß geben.

Bei Versuch V war die Anordnung so getroffen, wie bei dem in der ersten Mitteilung besprochenen Versuch IV, d. h. die mit Sand gefüllten Wände waren an ihrer Außenfläche mit Decken behangen. Bei VIII war die Anordnung ebenso wie bei VI (Decken innen).

Bei V wurde nach Abschluß der Anheizperiode, d. h. nachdem $t_i - t_a = 13{,}5°$ geworden war, noch etwa 2 Stunden lang mit so großen Wärmemengen weitergeheizt, daß die Innentemperatur noch weiter um



Tabelle I *).

1. Nr. des Versuchs	2. Versuchsanordnung	3. Erreichte höchste Temperaturdifferenz t_i-t_a	4. Wärmeverbrauch zum Anheizen WE.	5. Wärmeverbrauch zum Weiterheizen WE.	6. Dauer d. Weiterheizung in Minuten	7. t_i-t_a nach Stunden 1	2	3	4	6
I.	Versuchswände: Sand zwischen Metallplatten. Nebenwände: je 1 Decke.	13,5	298	—	—	6,6	4,8	3,9	3,2	2,5
II.	Wie I.	14,4	230	268 (zus. 498)	105	7,8	6,4	5,3	4,4	3,2
IV.	Versuchswände wie I, aber *außen* m. 1 Decke behängt. Nebenwände: je 2 Decken.	13,5	234	—	—	5,4	3,9	3,4	2,9	—
VI.	Versuchswände wie I, aber *innen* m. 1 Decke behängt. Nebenwände wie IV.	14,7	150	—	—	5,7	4,1	3,1	2,8	1,7
V.	Wie IV, außen isoliert.	14,0	220	219 (zus. 439)	120	8,0	6,6	5,8	5,2	4,2
VIII.	Wie VI, innen isoliert.	14,6	116	64 (zus. 180)	165	9,0	7,2	5,3	4,2	2,9
X.	Versuchswände wie I, *innen* 1 Decke. Nebenwände keine Decke.	13,9	206	—	—	6,5	4,7	3,5	2,9	2,4
XII.	Versuchswände wie I, *außen* 1 Decke. Nebenwände: keine Decke.	13,5	412	—	—	6,8	5,5	4,6	4,0	4,2

*) Die hier für den Wärmeverbrauch bei Versuch 1—4 angegebenen Zahlen weichen von denen der Tabelle VI unserer ersten Mitteilung etwas ab. Dies ist darauf zurückzuführen, daß wir bei unseren ersten Versuchen einen Fehler in den Angaben unserer Meßinstrumente übersehen hatten, den wir bei neuer Durchsicht in Rechnung setzten. Die Richtigkeit unserer Schlußfolgerungen aus den Versuchen wird dadurch nicht berührt.

0,9° stieg, dann wurde die Heizung abgestellt. Dabei wurden die Wände kräftig mit durchwärmt und also eine große Wärmemenge gespeichert. Bei Versuch VIII wurde infolge der Anordnung der Decken 104 WE weniger zum Anheizen verbraucht und ein Teil der so gesparten Calorien in kleinen Mengen über etwa $2^3/_4$ Stunden verteilt dem Versuchskasten zugeführt. Die Abkühlungskurve bei diesem Versuch VIII ist nun in ihrem ersten Teile entschieden viel flacher als bei V, trotzdem weit weniger als die halbe Calorienmenge für die Gesamtheizung verbraucht

wurde. Dies zeigt sich deutlich an der Differenz der Innen- und Außenluft in beiden Versuchen, wie sie in Tab. I stündlich für die Zeit nach Aufhören der Heizung eingetragen sind. Der Grund liegt darin, daß sehr wenig Wärme durch Speicherung in den Wänden der Innenluft entzogen wird und daher voll zum Ersatz der durch Transmission verlorenen Wärmemenge dienen kann.

Ferner muß auch die durch Transmission verlorengehende Wärme bei stärkerer Durchwärmung der Mauern größer sein als bei geringerer Durchwärmung, denn erstens nimmt die Wärmeleitfähigkeit der Baustoffe mit zunehmender Temperatur zu, und zweitens wird der Unterschied zwischen der Temperatur der Außenoberfläche der Wand und der Außenluft größer. Diese Differenz ist aber schließlich ausschlaggebend für den Wärmeverlust des Raumes[1]).

Gegen Ende der Abkühlungszeit macht sich naturgemäß die Wärmespeicherung bei Versuch V dadurch günstig bemerkbar, daß nunmehr diese Kurve flacher verläuft. Bei der Ausführung der Versuche war zunächst ein Fehler am Voltmeter nicht bemerkt worden. Dies hatte zur Folge, daß bei Versuch VIII dem Versuchskasten 40 WE zu wenig zugeführt wurden. Wäre auch diese Wärmemenge noch zugeflossen, so hätte sich natürlich ein noch größerer Vorteil von VIII ergeben.

C. Bei den bisher besprochenen Versuchen fand der Wärmeverlust zur Hauptsache durch die Versuchswände hindurch statt. Um zu zeigen, daß die Verhältnisse grundsätzlich die gleichen bleiben, wenn ein stärkerer Wärmeverlust an einer anderen Stelle des Versuchsraumes erfolgt, wurden die Versuche X und XII ausgeführt. Es wurde bei diesen Versuchen die Isolation an den Nebenwänden fortgelassen und dafür ein einfach verglastes Fenster von den Abmessungen 29 $\times$ 52 cm eingebaut. Der Wärmeabfluß geht bei dieser Anordnung im wesentlichen durch das Fenster vor sich. Bei Versuch X wurden die Versuchswände innen, bei Versuch XII außen isoliert. Bei Versuch XII, bei dem in den Wänden viel Wärme gespeichert wird, sinkt die Innenlufttemperatur etwa $2^1/_2$ Stunden nach dem Aussetzen der Heizung unter die der Wandoberfläche, ein Zeichen, daß aus der Wand nunmehr Wärme an die Innenluft zurücktritt. Bei Versuch X zeigt sich dieser Wärmerückstrom im Kurvenbild zwar nicht so unmittelbar, weil hier die Temperatur der Wandoberfläche nicht gemessen wurde, es liegen aber auch hier dieselben Bedingungen vor, wie sie bei wirklich ausgeführten Wohnräumen meist vorhanden sein werden.

[1]) Der erste Umstand dürfte praktisch freilich von geringer Bedeutung sein, weil die Zunahme für jeden Grad Temperaturerhöhung nur $^1/_{273}$ der bei 0° bestehenden Wärmeleitung beträgt. Dagegen dürfte der zweite Umstand auch praktisch beträchtlich ins Gewicht fallen. So war bei Versuch I bei Beginn der Abkühlung die Differenz zwischen Wandaußenoberfläche und Luft 0,5°, bei Versuch II = 1,4°, der Wärmeverlust im zweiten Falle also 180% höher als im ersten.



Ein Vergleich dieser beiden Versuche zeigt nun, daß sich ihre Kurven zueinander gerade so verhalten, wie die der Versuche IV und VI. Bei Innenisolation (Versuch X) finden wir auch hier leichte Anheizbarkeit, aber nach Aussetzen der Heizung auch schnelle Abkühlung. Bei Außenisolation heizt sich der Versuchskasten schwerer an, die Abkühlungskurve verläuft dann aber viel flacher[1]).

Diese Versuche hatten die Schlüsse, die wir schon aus den Temperaturkurven der untersuchten Häuser gezogen hatten, nochmals bestätigt. Sie zeigen, daß bei gleicher Wärmedurchgangszahl die Anheiz-

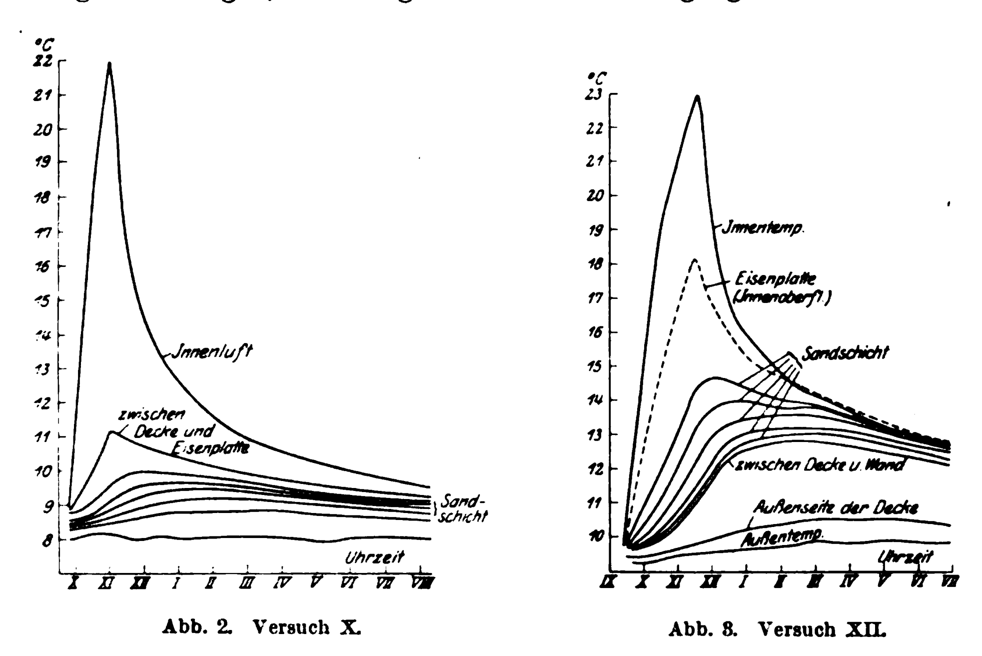


Abb. 2. Versuch X.

Abb. 3. Versuch XII.

und Abkühlungszeit sich wesentlich anders gestaltet, wenn die Wände infolge Innenisolation nur wenig Wärme speichern, oder wenn dies bei Außenisolation besonders ausgeprägt ist. Auch ergab sich kein grundsätzlicher Unterschied, wenn der Wärmeabfluß vorwiegend durch die Versuchswände oder auf anderem Wege erfolgte.

III. Versuche unter der Wirklichkeit angepaßten Bedingungen.

Wir konnten nun dazu übergehen, unsere Untersuchung auf die Verhältnisse auszudehnen, die der Wirklichkeit mehr angepaßt sind. Hier wird meist eine längere Reihe von Stunden hindurch die Temperatur auf gleicher Höhe gehalten, ehe die Heizung abgestellt wird.

A. Wir hatten daher zunächst zu vergleichen, ob es dann auch zweckmäßiger sei, die schlecht wärmeleitenden Wandteile innen oder

[1]) Auch die später zu besprechenden Versuche 17 und 19 zeigen dasselbe Verhalten.

außen von den Wärme speichernden anzuordnen. Zu dem Zwecke wurde Versuch XVII, bei dem die Decken innen angebracht waren, mit Versuch XIX (Decken außen) verglichen. Nachdem bei XVII eine Temperaturdifferenz $t_i - t_a = 14°$ erreicht war, wurde die Temperatur $5^1/_2$ Stunden möglichst gleichmäßig hoch gehalten (siehe Abb. 3 und 4). In den ersten beiden Stunden wurden dazu 168 WE verbraucht. In der ganzen $5^1/_2$ Stunden dauernden Weiterheizperiode wurden 325 WE, im ganzen 475 WE, zugeführt. Bei Versuch XIX waren die Wärmeschutzdecken außen angebracht. Es wurde in gleicher Weise wie bei XVII verfahren. Zunächst war die Anheizzeit fast dreimal so lang als bei XVII,

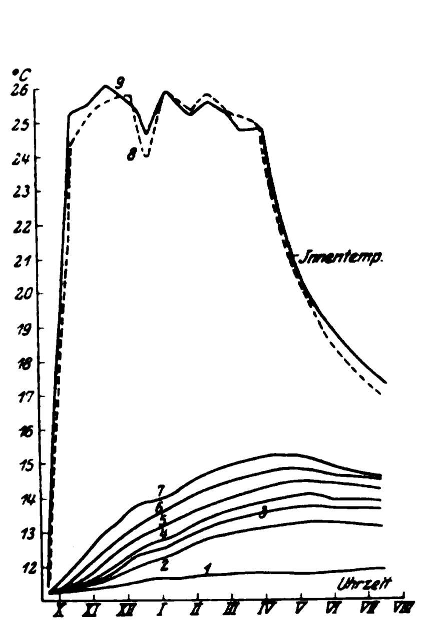


Abb. 4. Versuch XVII. *9* = Innenluft, *8* = Oberfl. d. Innenisolation, *7*—*3* Sandschichten, *2* = Wandaußenoberfläche, *1* = Außentemp.

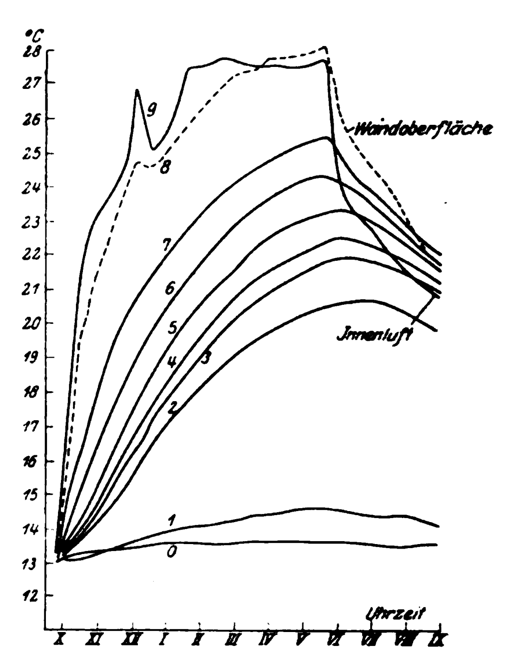


Abb. 5. Versuch XIX. *9* = Innenluft. *8* = Wandinnenoberfl., *7*—*3* = Sandschichten, *2* = Zwischen Wand u. Außenisolation, *1* = Auf Außenisolation, *0* = Außenluft.

und es wurden in dieser Zeit 449 anstatt 150 WE verbraucht. Aber auch beim Weiterheizen ist erheblich mehr Wärme erforderlich, als bei Vorhandensein der Wärmeisolierung an der Innenseite. Während der $5^1/_2$ Stunden des Versuches wurden 706 WE gegen 325 bei XVII verbraucht. Dies ist darauf zurückzuführen, daß, auch wenn die Lufttemperatur schon konstant geworden ist, in den Wänden sich noch keineswegs der Beharrungszustand einstellt, vielmehr immer noch weit mehr Wärme in den Mauern gespeichert wird als bei Innenisolation, wie das sich deutlich aus den abgebildeten Kurven ergibt. Zum Schluß ist infolgedessen naturgemäß ein sehr großes Wärmereservoir vorhanden und daher ist die Abkühlungskurve bei XIX erheblich flacher als bei XVII.

Aus den Kurven läßt sich im einzelnen noch folgendes schließen: Bei Vorhandensein von Isolationsdecken an der Innenseite der Wände wird praktisch während der Anheizzeit kaum Wärme in den Wänden gespeichert, dagegen ist bei Außenisolierung die gespeicherte Wärmemenge schon während der Anheizzeit beträchtlich, woraus sich ohne weiteres der Mehrverbrauch an zugeführter Wärme ergibt. Beim Weiterheizen wird nun zwar auch bei Innenisolation eine nicht unbeträchtliche Wärmemenge in den Wänden gespeichert. Dies ist aber bei Außenisolation in noch viel größerem Maße der Fall. Dagegen ist die Wärmeabgabe der Wände an die Außenluft bei Innenisolation schon während des Weiterheizens größer als bei Außenisolation, da die Temperaturdifferenz zwischen Wandaußenoberfläche und Außenluft bei den innen isolierten Wänden erheblich größer ist, als bei den außen isolierten. In unseren Versuchen ergab sich durch Planimetrierung für Innenisolation eine Durchschnittsdifferenz von 7,3° und bei Außenisolation von 6,7°. Das würde eine erhöhte Wärmeabgabe bei Innenisolation von 8,2% bedeuten[1]). Trotzdem wird, wie gezeigt, bei der Innenisolation während des Weiterheizens 54% weniger Wärme verbraucht, woraus wieder der ausschlaggebende Einfluß des Wärmespeichers ersichtlich ist. Die Temperatur der Wandinnenoberfläche steigt bei Innenisolation fast genau so schnell und hoch an als die Innenlufttemperatur. Bei Außenisolation (oder besser gesagt, bei Fehlen einer Innenisolation) bleibt die Temperatur der Wandinnenoberfläche zunächst erheblich unter der der Innenluft, erreicht sie erst einige Stunden nach Beginn des Weiterheizens und geht dann anscheinend sogar etwas darüber hinaus. Dies mag vielleicht auf Strahlungswirkung zurückzuführen sein, vielleicht waren jedoch unsere Meßeinrichtungen nicht so genau, daß sie Bruchteile eines Celsiusgrades mit absoluter Zuverlässigkeit anzeigten.

Bei der Abkühlung liegen die Verhältnisse nun für den Raum mit außen isolierten Wänden äußerst günstig. Es ist ein großer Wärmevorrat vorhanden, während die Wärmeabgabe der Wände an die Außenluft verhältnismäßig gering ist. Daher ist es leicht verständlich, daß jetzt sogar ein Rückstrom von Wärme an die Innenluft erfolgt. Es wird eben $\Delta Q > \frac{s\,g}{s_1\,g_1} \Delta Q_1$ (siehe S. 407). Die Abkühlungskurve verläuft daher auch viel flacher als bei Innenisolation.

B. Nun wäre es möglich, daß sich die Verhältnisse wesentlich zugunsten der Wandausbildung mit innerem Wärmespeicher verschöbe, wenn die *Heizung* wie zumeist in der Wirklichkeit *tagelang hintereinander*

[1]) Dies könnte als ein Widerspruch gegen das in Abschnitt II B Anm. Gesagte erscheinen. Dort ergab sich bei stärkerer Durchwärmung der Wände ein stärkerer Wärmeverlust an die Außenluft. Im vorliegenden Falle wird aber dieser Verlust durch die gute Außenisolation verhindert.



wiederholt wird. Um dies zu untersuchen, wurde in Versuch XX bei derselben Versuchsanordnung wie bei XIX vier aufeinanderfolgende Tage lang je 6 Stunden geheizt. Die Innenlufttemperatur wurde durch Thermographen aufgezeichnet, woneben die übliche Beobachtung durch Thermoelemente bestehen blieb. Es zeigte sich in der Tat, daß von Tag zu Tag der Wärmeverbrauch sowohl für die Anheizperiode wie zum Konstanthalten der Temperatur auf gleicher Höhe geringer wurde, wie nachstehende Tabelle ergibt.

Versuch XX (außen isoliert).

Versuchstag	Zum Anheizen verbraucht WE	Zum Konstanthalten der Temp. verbraucht WE	Zusammen WE
I.	400	795	1195
II.	302	734	1036
III.	286	706	992
IV.	257	713	970
			4193

Die am voraufgehenden Tage in den Wänden gespeicherte Wärme kam also zu einem Teil am darauf folgenden der Heizung wieder zugute, wie das früher bereits *de Grahl* bei einem Heizversuch in einer Villa zeigte (Ges.-Ing. 2. VI. 1907). Die Kurven der Wandinnentemperaturen, die an dieser Stelle ausführlich mitzuteilen zu weit führen würde, zeigten deutlich eine von Tag zu Tag zunehmende Durchwärmung der Wände, was bei Innenisolation nicht der Fall war. Dennoch zeigte es sich, daß bei Wärmeisolierung innen (Versuch XXIII) wesentlich weniger Wärme verbraucht wird, trotzdem hier eine wesentliche Abnahme der an den einzelnen Tagen benötigten Wärmemenge im Laufe der Heizperiode nicht eintritt.

Versuch XXIII (innenisoliert).

Versuchstag	Zum Anheizen verbraucht WE	Zum Konstanthalten verbraucht WE	Zusammen WE
I.	113	444,1	557,1
II.	104	464,4	568,4
III.	105	470,6	575,6
IV.	102	451,8	559,8
			2260,9

Bei einem rein zahlenmäßigen Vergleich der bei Versuch XX und XXIII verbrauchten Wärmemengen würde freilich XX schlechter dastehen als es der Wirklichkeit entspricht, da die in diesem Falle erreichten Differenzen zwischen der Temperatur im Inneren des Versuchskastens und der Außenluft größer waren als im Versuch XXIII. Planimetriert man aber in beiden Fällen die von zwei Zeitkoordinaten und den Kurven der Außen- und Innentemperatur eingeschlossene Fläche, welche als ein Maß der ausgenutzten Wärmemenge angesehen werden kann, so verhalten sie



sich wie 116: 85. Die in der entsprechenden Zeit zugeführten Wärmemengen verhalten sich wie 3223: 1701. Am zweckmäßigsten vergleicht man durch Division die durch Planimetrieren erhaltene Zahl mit der entsprechenden Wärmemenge. Wir erhalten dann für Versuch XX die „Ordnungszahl" 359 und für XXIII 500. Daraus ergibt sich wieder, daß *bei Wärmeisolation an der Innenfläche die zugeführte Wärmemenge besser ausgenutzt* wird als im umgekehrten Falle. Vom *hygienischen Standpunkt* ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß der *Temperaturabfall während der Heizpause bei Innenisolation ein sehr beträchtlicher* ist. Dies zeigt sich besonders in den späteren Stunden der Abkühlungszeit, wo die Differenz zwischen Innen- und Außenlufttemperatur sehr gering wird. *Hygienisch ist* also eine *intermittierende Heizung mit Innenisolation und ohne Wärme speichernden Heizkörper* zumeist *nicht* sehr *empfehlenswert.*

C. Aus den bisher besprochenen Versuchen ergibt sich, daß bei periodisch unterbrochener Heizung die in den Wänden aufgespeicherte Wärme zwar nicht gänzlich verloren ist, aber doch nur recht unvollkommen ausgenutzt wird. Es ist jetzt zu untersuchen, wie sich die Ausnutzung gestaltet, wenn ein Teil der zugeführten Wärmemenge in einem *mit dem Heizkörper verbundenen,* aber *von den Wänden getrennten* Reservoir aufgespeichert wird (Kachelofenprinzip).

Zur Klärung dieser Frage sollten die Versuche XXXVI und XXXIII dienen. Bei Versuch XXXVI waren 16 Normalziegel unmittelbar um den elektrischen Ofen herumgebaut, während der Ofen bei Versuch XXXIII frei stand.

Es wurde zunächst bis zu einer Temperaturdifferenz $t_i - t_a = 13{,}5°$ angeheizt und dann die erreichte Temperatur 6 Stunden lang möglichst gleich hoch gehalten. Dann wurde die Heizung völlig abgestellt und dies 4 Tage lang wiederholt. Beim Anheizen in Versuch XXXVI (Kachelofenprinzip) (siehe Tab. 2) wird an allen Tagen erheblich mehr Wärme benötigt als bei Versuch XXXIII (eiserner Ofen). Dagegen war zum Konstanthalten der Temperatur beim Kachelofen weniger Wärme nötig als beim eisernen Ofen. Dies ist offenbar darauf zurückzuführen, daß bei der langsamen Anheizung beim Kachelofenversuch der Wärmespeicher in den Wänden schon zu einem großen Teile mit aufgefüllt wird, während das bei der rascheren Anheizung durch den nicht speichernden Heizkörper viel weniger der Fall ist, und nun dieser Fehlbetrag beim Weiterheizen geliefert werden muß. Die Ausnutzung der Wärme im ökonomischen Sinne war dennoch beim Heizkörper ohne Kapazität erheblich besser als beim speichernden Heizkörper. Als Ordnungszahlen ergaben sich 300 bzw. 266. Freilich war die Abkühlungskurve bei Versuch XXXVI flacher. Bei Verwendung eines Wärme speichernden Heizkörpers wird die hygienische Forderung der zeitlichen Gleichmäßigkeit also besser erfüllt. Bei 2 weiteren Versuchen, die sich von den eben beschriebenen

Tabelle II.

1. Nr. des Versuchs	2. Art des Ofens	3. Wand-konstruktion	4. Heizart	5. Bis zum Erreichen einer Temp.-Diff. von 18,5° wurden verbraucht:	6. Um die Temperat. konstant zu halten, wurden stündlich zugeführt:	7. Ordnungszahl	8. Durch-schnittl. täglicher Wärme-verbrauch	9. Bemerkungen
XXXIII.	Ohne Kapazität	Metallwände dazwischen Sand. Keine Isolation.	Perioden-heizung	I. Tag: 578 WE II. Tag: 529 WE III. Tag: 512 WE	109 WE	300	1281 WE	Bei diesem Versuch waren höhere Temperaturdifferenzen als bei Vers. XXXVI.
XXXVI.	Mit Kapazität	dgl.	dgl.	I. Tag: 710 WE II. Tag: 640 WE III. Tag: 600 WE	96 WE	266	1292 WE	—
XXXIV.	Ohne Kapazität	dgl.	Dauer-heizung	I. Tag: 578 WE Nach Einsetzen der Dauerheizung 355 WE	108 WE	328	1280 WE	Von 7h abends bis 8h morgens wurden durchschnittlich ständl. etwa 5 WE zugeführt.
XXXXV.	Mit Kapazität	dgl.	dgl.	I. Tag: 680 WE Nach Einsetzen der Dauerheizung 410 WE	93 WE	310	1412 WE	dgl.

nur insofern unterschieden, als die in einem Fall um den Ofen angeordneten Ziegel, im anderen nicht aus dem Kasten entfernt, sondern an den Wänden aufgestellt wurden, hatten wir genau dieselben Ergebnisse.

D. Eine noch wesentlich bessere Gleichmäßigkeit der Temperatur ohne größeren Wärmeverbrauch ließ sich durch *Dauerheizung* erzielen, und zwar sowohl mittels wärmespeicherndem, wie nicht speicherndem Heizkörper. Die Dauerheizversuche XXXIV und XXXV wurden so angestellt, daß tagsüber ebenso wie bei den beschriebenen Periodenheizversuchen verfahren wurde, abends dagegen mit geringen Wärmemengen bis zum Neubeginn der Tagesheizung weitergeheizt wurde. In der ersten Nacht wurden ca. 180 WE, in der zweiten ca. 220 WE und in der dritten Nacht ca. 70 WE zugeführt. Von den in Spalte 5 angegebenen Zahlen bezieht sich die obere auf den ersten Versuchstag, wo also noch keine Nachtheizung vorangegangen war; die zweite auf den dritten, wo in der voraufgegangenen Nacht mit 70 WE geheizt war. Die Ausnutzung war eine wesentlich bessere, wie das aus der Tabelle ohne weiteres ersichtlich ist. Dabei war von den beiden Dauerheizversuchen wiederum der mit einem Heizkörper ohne Kapazität angestellte am vorteilhaftesten. Wenn nun auch die Dauerheizung die Wärme besser ausnutzt als die Periodenheizung, so bedeutet das noch nicht ohne weiteres, daß sie wirklich billiger ist als die letzte. Es könnte sein, daß bei der langen Heizzeit doch absolut mehr Wärme verbraucht würde als bei der täglich nur einige Stunden betriebenen Periodenheizung. Dies war auch in der Tat beim speichernden Heizkörper der Fall. Hier wurde die größere Gleichmäßig-

keit nur durch ein absolutes Mehr an zugeführter Wärme erreicht, wie Tab. II, Spalte 8 zeigt. Beim nicht speichernden Heizkörper wurde bei der Dauerheizung nicht nur relativ, sondern auch absolut weniger Wärme verbraucht als bei der Periodenheizung.

Diese Zahlen lassen klar erkennen, daß bei speichernden, nicht isolierten Wänden (Ziegelmauern), wie sie in Wirklichkeit zumeist angetroffen werden, die Dauerheizung mit nicht speicherndem Heizkörper, sowohl vom hygienischen wie vom ökonomischen Standpunkt aus bei Verwendung gleichwertigen Brennstoffes bei weitem am besten ist.

E. Versuche mit verschieden isolierten Wänden und speicherndem Heizkörper.

a) Periodenheizung.

Die folgenden Versuche bezogen sich wieder auf verschieden isolierte Mauern. Die Versuche XXIXa und XXXa (siehe Tab. 3) sollten dazu dienen, festzustellen, ob es beim Kachelofenprinzip und periodischer Heizung vorteilhaft wäre, auch noch in den Wänden Wärme zu speichern oder dies durch Innenisolation möglichst zu vermeiden. Bei beiden Versuchen waren die Ziegel wieder um den Ofen angeordnet, bei XXIXa war innen eine isolierende Decke angebracht, die bei XXXa außen hing. Hinsichtlich der relativen Wärmeausnutzung waren beide Anordnungen fast gleich. Absolut betrachtet war freilich Versuch XXIXa (Kachelofen mit Wandisolation innen) etwas billiger, da hier, auf die Weiterheizstunde berechnet, etwas weniger Wärme verbraucht wurde als bei Versuch XXX.

Dies hat seinen Grund darin, daß infolge der Innenisolation die in den späteren Heizstunden vom Ofen abgegebenen kleinen Wärmemengen zur Erwärmung der Innenluft voll ausgenutzt werden, da zum Weiterauffüllen des Wärmespeichers nur ganz geringe Wärmemengen verbraucht werden. Bei Versuch XXXa dagegen werden zu große Mengen für die Speicherung beansprucht, so daß die vom Ofen abgegebenen Wärmemengen zu klein werden, um noch einen Einfluß auf die Innentemperatur zu haben. Nun wird aber in der Wirklichkeit der Kachelofen meistens nur früh angeheizt und die von ihm abgegebene Wärme wird, nachdem ein Maximum erreicht ist, mit der Zeit immer kleiner. Die Wirkungsgrenze dieser vom sich abkühlenden Kachelofen stammenden Wärme liegt somit bei Innenisolation nicht unerheblich tiefer als bei Außenisolation. Bei längerer Heizpause zeigt sich freilich eine kleine Überlegenheit der Versuchsanordnung XXXa. Die hier in der Wand gespeicherte Wärme ist nicht ganz verloren, sie bewahrt den Raum vor zu tiefer Abkühlung. Daraus erklärt sich die etwas bessere Ordnungszahl dieses Versuches. Die Kurvenbilder dieser Versuche, auf deren Abdruck wir freilich verzichten müssen, zeigen, daß zu Beginn des neuen Anheizens die Anfangstemperatur bei XXXa etwa $1^1/_2°$ höher ist als bei Versuch XXIXa. Dies hat wiederum auch einen gewissen Einfluß auf die Anheiz-



Tabelle III.

1. Nr. des Versuchs	2. Art des Ofens	3. Wandkonstruktion	4. Heizart	5. Bis zum Erreichen einer Temp.-Diff. von 18,5° wurden verbraucht:	6. Um die Temperatur konstant zu halt., wurden stündlich verbraucht:	7. Ordnungszahl
XX.	Ohne Kapazität	Wand ist außen isoliert	Periodenheizung	I. Tag: 352 WE II. Tag: 256 WE III. Tag: 250 WE	94 WE	359
XXIII.	Ohne Kapazität	Wand ist innen isoliert	Periodenheizung	I. Tag: 110 WE II. Tag: 110 WE	79 WE	500
XXIX a.	Mit Kapazität	dgl.	dgl.	I. Tag: 580 WE II. Tag: 416 WE III. Tag: 400 WE	78 WE	346
XXIX b.	dgl.	dgl.	Dauerheizung	I. Tag: 580 WE Nach Einsetzen d. Dauerheizung: 368 WE	72 WE	451
XXX a.	dgl.	Wand ist außen isoliert	Periodenheizung	I. Tag: 664 WE II. Tag: 396 WE III. Tag: 400 WE	84 WE	350
XXX b.	dgl.	dgl.	Dauerheizung	I. Tag: 660 WE Nach Einsetzen d. Dauerheizung: 352 WE	80 WE	404
XXXI.	Ohne Kapazität	dgl.	dgl.	I. Tag: 360 WE Nach Einsetzen d. Dauerheizung: 224 WE	84 WE	384
XXXII.	Ohne Kapazität	Wand ist innen isoliert	dgl.	I. Tag: 120 WE Nach Einsetzen d. Dauerheizung: 112 WE	80 E	465

periode, die bei XXXa in den späteren Tagen etwas weniger Wärme erfordert als bei XXIXa. In rein hygienischer Beziehung verdient die Kombination XXXa mithin den Vorzug, da sie eine gleichmäßigere Temperatur ergibt als XXIXa; jedoch zeigen diese Versuche, daß beim Kachelofenprinzip nicht unbedingt ein Wärmespeicher in den Wänden vorhanden zu sein braucht.

Es ist noch in Betracht zu ziehen, daß wie schon erwähnt, bei Innenisolation der Wände die Temperatur der Wandinnenflächen sich fast auf die gleiche Höhe einstellt wie die der Luft. Der Körper der Bewohner



kann also durch Abstrahlung gegen sie nur verhältnismäßig wenig Wärme abgeben. Daher ist es in diesem Falle zweckmäßig, die Raumtemperatur auf einer etwas niedrigeren Höhe zu halten, damit nicht infolge etwaiger Wärmestauung ein unbehagliches Gefühl entstehe (vgl. Kurven 4 und 5).

b) Dauerheizung.

Bei Dauerheizung und speicherndem Heizkörper war die Innenisolation ökonomischer. Die Ordnungszahl von Versuch XXIX b (Innenisolation) betrug 451, die des Gegenversuches XXX b 404. Bei letzterem wurde wie immer bei Außenisolation mehr Wärme zum Weiterheizen verbraucht, die sich z. T. in den Wänden speicherte, wodurch allerdings wiederum eine größere Gleichmäßigkeit der Temperatur bewirkt wurde.

F. Versuche mit verschieden isolierten Wänden und nicht speicherndem Heizkörper.

a) Periodenheizung.

Wie die Versuche XX und XXIII zeigen, ist bei nicht speicherndem Heizkörper die Innenisolation bedeutend ökonomischer. Es wird aber später darauf hinzuweisen sein, daß gegen diese Anordnung große hygienische Bedenken bestehen.

b) Dauerheizung.

Auch bei Dauerheizung und nicht speicherndem Heizkörper war die Innenisolation ökonomischer als die Außenisolation (Versuch XXXII und XXXI.)

G. Vergleich von speicherndem und nicht speicherndem Heizkörper bei Periodenheizung und gleicher Ausbildung der Wände.

a) Innenisolation.

Nunmehr war zu vergleichen, ob (bei *gleicher* Ausbildung der Wände) das Kachelofenprinzip oder das des eisernen Ofens vorteilhafter wäre. Bei Innenisolation der Mauer und periodischer Heizung ergibt sich ein unbedingter Vorteil des eisernen Ofens. Dies zeigen die Versuche XXIII und XXIX a. Die Ordnungszahl des Verhältnisses von ausgenutzter zu zugeführter Wärme beim eisernen Ofen betrug 500, während sie beim Kachelofen nur 346 betrug. Auch der absolute Verbrauch von Wärme war bei nicht speicherndem Heizkörper erheblich geringer als bei speicherndem. Vom hygienischen Standpunkt bestehen aber gegen die Anordnung XXIII schwerwiegende Bedenken. Nach Aussetzen der Heizung kühlt sich der Raum rasch und tief ab. Für Wohnräume ist diese Anordnung daher zu verwerfen. Für nur zeitweilig benutzte Räume (Büros, Versammlungszimmer usw.) ist sie dagegen empfehlenswert.

b) Außenisolation.

Ein Vergleich der Versuche XX und XXX a, wo beide Male eine Wärmespeicherung in den nach außen isolierten Wänden stattfand, ergab

ebenfalls ein Übergewicht des eisernen Ofens; jedoch war dieses ziemlich unbedeutend, 359:350.

Da in der Praxis zumeist eine Wärmespeicherung in den Wänden stattfindet, ergibt sich hieraus, daß ein *guter* eiserner Ofen den Vergleich mit dem Kachelofen unbedingt aushält. Ist eine innere Wärmeisolation vorhanden, so ist eine Heizeinrichtung ohne Wärmespeicherung ökonomischer. Dabei ist noch in Betracht zu ziehen, daß bei unseren Versuchen die Verhältnisse für den Kachelofen entschieden günstiger lagen, als sie es in Wirklichkeit sind, da bei uns keinerlei Wärmeverluste durch Luftströme im Ofen selbst eintraten. Vom hygienischen Standpunkt ist zu dem noch hinzuzufügen, daß bei Heizeinrichtungen nach dem Kachelofenprinzip zumeist die Regulierbarkeit eine recht geringe ist, so daß sie vor allem in der Übergangszeit sich den Schwankungen der Außentemperatur sehr schwer anpassen lassen.

H. Vergleich von speicherndem und nicht speicherndem Heizkörper bei Dauerheizung und gleicher Ausbildung der Wände.

a) Innenisolation.

Die Versuche XXIXb (Kachelofen) und XXXII (eiserner Ofen) zeigen, daß bei Innenisolation der Wände und Dauerheizung der nicht speichernde Heizkörper ökonomischer ist. Vor allem gelingt es, die während der Nachtheizung naturgemäß etwas abgesunkene Lufttemperatur rasch wieder auf die gewünschte Höhe zu bringen.

b) Außenisolation.

Bei Außenisolation erweist sich das Kachelofenprinzip dem des eisernen Ofens überlegen. Nach Durchwärmung des großen Wärmespeichers ist ein so großer Wärmevorrat vorhanden, daß während der Nachtheizung nur ein geringes Absinken der Temperatur stattfindet, wodurch die bessere Ordnungszahl beim Kachelofen sich erklärt.

I. Vergleich von Innenisolation und Außenisolation.

In allen unseren Versuchen erwies sich die Innenisolation ökonomischer als die Außenisolation. *Jedoch ist sie bei Periodenheizung und nicht speicherndem Heizkörper für Wohnräume hygienisch unzweckmäßig.*

K. Vergleich von Periodenheizung zu Dauerheizung.

Dauerheizung zeigte sich bei allen Kombinationen von Wandausbildung und Heizkörpern der Periodenheizung überlegen. Nur bei nichtspeicherndem Heizkörper und Innenisolation war die Periodenheizung ökonomischer. Diese Kombination ist aber wie S. 421 ausgeführt aus hygienischen Gründen zu verwerfen. Es ist also immer die Dauerheizung zu empfehlen.

Zusammenfassung.

Aus unseren Versuchen möchten wir folgende Ergebnisse besonders hervorheben:

1. Bei nicht isolierten Mauern (Ziegelmauern) ist bei Periodenheizung der nicht speichernde Heizkörper zwar ökonomischer, aber wenig hygienisch.

2. Bei solchen Mauern ist Dauerheizung mit nicht speicherndem Heizkörper in ökonomischer und hygienischer Beziehung am vorteilhaftesten und zu empfehlen.

3. Da die in den Wänden gespeicherte Wärme zwar nicht ganz verloren ist, aber doch nur unvollkommen ausgenutzt wird, ist es zweckmäßig, durch Innenisolation der Wände die Wärmespeicherung in ihnen möglichst einzuschränken.

4. Bei Innenisolation ist die Abstrahlung von Körperwärme gegen die Wände herabgesetzt, daher kann die Innentemperatur etwas niedriger gehalten werden.

5. Empfehlenswert ist daher, unter Berücksichtigung der Brennstoffteuerung besonders bei Kleinhäusern: *Innenisolation der Wände bei Dauerheizung mit nicht speicherndem Heizkörper.* Der speichernde Teil der Mauern kann dann auf das aus statischen Gründen nötige Maß beschränkt werden.

Für den Verlauf der Kurven der Luft- bzw. Wandtemperaturen unter verschiedenen Bedingungen, wie wir ihn experimentell feststellten, haben wir an einigen Stellen versucht, theoretische Erklärungen zu geben Wir sind uns wohl bewußt, daß es in manchen Fällen wünschenswert wäre, genaue mathematische Formeln für den Verlauf der Kurven zu finden. Insbesondere wäre eine Formel von praktischer Bedeutung, die eine vorherige Berechnung derjenigen Wärmemengen ermöglichte, die bei Erwärmung eines Raumes gespeichert bzw. nach außen abgeleitet wird, bei verschiedener Ausbildung der Wände. Annäherungsweise wäre das vielleicht unter Zuhilfenahme *Fourier*scher Reihen möglich. Solche Untersuchungen sind aber nicht Aufgabe des Hygienikers. Wir müssen sie den Heizungstechnikern und technischen Physikern überlassen. Sie setzen eine Reihe von Konstanten voraus, die nur auf experimentellem Wege ermittelt werden können. Uns lag nur daran, daß einmal ein erster Schritt auf einem bisher stark vernachlässigten Wege getan würde[1]).

V. Verhalten verschieden isolierter Wände im Sommer.

Einer besonderen Untersuchung bedarf noch die Frage, wie sich verschieden isolierte Wände hinsichtlich des Schutzes der Räume gegen das

[1]) Es sei übrigens daran erinnert, daß schon von *Peclet* ein Versuch zur Aufstellung einer Wärmebedarfsformel gemacht ist. Sie bezieht sich jedoch nur auf nicht isolierte Wände und scheint keine Weiterentwicklung erfahren zu haben (s. *Flügge*, Hyg. Untersuchungsmethoden 1881).



Eindringen der Hitze im Sommer verhalten werden. Es ist anzunehmen, daß sich diejenige Anordnung auch für den Sommer am zweckmäßigsten erweist, die im Winter am günstigsten ist. Das zeigt ein Vergleich des Kurvenverlaufes der Lufttemperatur, den wir im Sommer und im Winter in den Steglitzer Häusern feststellten. Diejenigen Räume, die im Winter die besten Heizergebnisse hatten, waren im Sommer am kühlsten. Nach unseren Untersuchungen bewährte sich beim Heizen am besten die Innenisolation, und es ist daher zu überlegen, wie ihr Verhalten im Sommer sein wird. Die Wärme der Außenluft wird tagsüber natürlich ebenso schnell auf innenisolierte Wände übergehen, wie auf nicht isolierte. Sie geht aber viel langsamer auf die *Innenluft* über, da das Wärmegefälle infolge der innen angebrachten schlecht Wärme leitenden Schicht zwischen Innenluft und Wandoberfläche nur ein sehr geringes sein wird. Es wird sich hier der umgekehrte Zustand einstellen, wie er in IIIA, Seite 413 für die außen isolierte Wand zwischen Wandaußenfläche und Außenluft nachgewiesen ist. Infolgedessen wird sich naturgemäß tagsüber eine beträchtliche Wärmemenge in solchen Wänden speichern. Da aber bei nächtlicher Abkühlung sich ein ziemlich großes Wärmegefälle zwischen Wandaußenoberfläche und Außenluft ausbilden wird, wird in der Nacht auch wiederum eine beträchtliche Auskühlung der Mauern zustande kommen. Bei außen isolierten Wänden wird es gerade umgekehrt sein. Sie werden sich zwar langsam erwärmen, die einmal gespeicherte Wärme aber rasch an die Innenluft abgeben und sich beim Sinken der Außenlufttemperatur länger auf höherer Temperatur halten. Da aber gerade ein baldiges Absinken der Wohnungstemperatur nach einer Hitzeperiode erwünscht ist, dürfte auch für den Sommer die Innenisolation das Gegebene sein.[1])

Vielleicht hätte nun eine bisher übergangene Art der Wandisolation sowohl für den Winter wie den Sommer noch besser sein können, als Innenisolation, nämlich Isolation sowohl innen wie außen. Diese Anordnung schlecht wärmeleitender Stoffe konnten wir bisher noch nicht in unsere Versuche einbeziehen. Wir mußten uns aber zu einer Veröffentlichung unserer Ergebnisse entschließen, auch ohne diese Anordnung durchgeprüft zu haben. An unserem Versuchskasten wurden nämlich umfangreiche Reparaturen nötig, die ausführen zu lassen, die geringen uns zur Verfügung stehenden Mittel nicht ausreichten. Wir müssen diese Versuche also auf etwaige bessere Zeiten verschieben.

[1]) *Anmerkung bei der Korrektur:* Zur Zeit wird diese Frage experimentell geprüft. Dabei scheint sich eine etwas schnellere Transmission der Außenwärme zur Innenluft bei Innenisolation zu ergeben, als nach den obigen theoretischen Überlegungen anzunehmen war.



VI. Anwendbarkeit der Ergebnisse der Laboratoriumsversuche auf wirkliche Häuser.

Zum Schluß ist noch zu überlegen, inwieweit die Ergebnisse unserer Laboratoriumsversuche auf wirkliche Häuser übertragen werden können. Daß dies im Prinzip zulässig ist, hatte das gleichartige Verhalten unserer in den Steglitzer Häusern erhaltenen Kurven und der entsprechenden Modellversuche ergeben. Besonders die Ergebnisse der verschiedenen Isolierversuche werden leicht auf Häuser übertragen werden können. Die Ergebnisse unserer Vergleiche von speichernden und nicht speichernden Heizkörpern dagegen werden gewissen Einschränkungen bei wirklichen Häusern unterworfen sein. Hier hängt naturgemäß viel von dem Verhältnis der Massen des Heizkörpers und der Wände ab. In unseren Versuchen war dies etwa 1 : 6, wobei die spezifische Wärme der Füllmasse der Wände und die der Ziegel als gleich angenommen werden konnte. Ist dies Verhältnis kleiner, so werden sich die Temperaturkurven mehr denen des nicht speichernden Heizkörpers angleichen, ist es größer, so werden in Wirklichkeit die Unterschiede vielleicht noch markanter werden als bei unseren Versuchen. Ferner hängt die Ausnutzung der zugeführten Wärmemenge bei verschiedenen Heizkörpern natürlich von der mehr oder weniger zweckmäßigen Bauart des betreffenden Heizkörpers ab. Bei einem guten Kachelofen können sich also unter Umständen ökonomischere Verhältnisse ergeben als bei einem schlechten eisernen Ofen. Auch die Unterschiede, die sich bei unseren Versuchen zwischen Perioden- und Dauerheizung ausprägten, werden sich in der Wirklichkeit zuweilen mehr verwischen, da sich bei einer langen Heizperiode die Gegensätze zwischen beiden Heizungsarten etwas ausgleichen müssen.

Wir überschätzen also keineswegs die Bedeutung unserer Laboratoriumsversuche für die Wirklichkeit. Zweifellos wäre es wünschenswert, wenn unsere Ergebnisse an ausgeführten Häusern nachgeprüft werden könnten; vorläufig fehlen uns dazu leider die Mittel. Wir glauben aber doch eine Reihe von Gesichtspunkten angegeben zu haben, die den Heizungstechnikern Anregung geben können, die Frage der Wärmespeicherung und der Isolierung von Wänden eingehender in ihre Berechnungen einzubeziehen. Auch für den Architekten geben unsere Versuche Fingerzeige, schon bei der Aufstellung des Bauplanes die Wärmeökonomie unter dem Gesichtspunkte der später einzubauenden Heizeinrichtung zu berücksichtigen.



(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin [Abteilungsvorsteher: Prof. *Korff-Petersen*].)

Untersuchungen über Lüftungseinrichtungen in Kleinhäusern.

Von
Dr.-Ing. **R. Flügge**, Berlin.

Im nächsten Jahrzehnt kommen von städtischen Wohnungsbauten vorzugsweise nur Kleinhäuser für ein bis vier Haushaltungen in Betracht. Größere Mietskasernen und dichte Häufungen von Mietshäusern bieten so viel soziale und hygienische Nachteile gegenüber den Kleinhäusern in weiträumiger Bebauung, daß letztere für die nächste Zukunft unbedingt bevorzugt werden müssen. Andererseits drängt die steigende Wohnungsnot zu reichlichsten Neubauten; unser wirtschaftlicher Aufschwung ist geradezu davon abhängig, daß es gelingt, zahlreiche gute Kleinhäuser namentlich in den Gegenden zu errichten, in denen produktive Arbeit geleistet werden soll.

Es kann daher nicht wundernehmen, daß zur Zeit die beste und billigste Art der Bauart von Kleinhäusern lebhaft erörtert wird. Über die zulässigen Bauerleichterungen, über die zweckmäßigsten Baustoffe, über die am besten geeigneten Abmessungen und Grundrisse, über die Größe und Form der beizugebenden Gärten, über die einfachste Art der Beseitigung der Abfallstoffe usw. sind zahlreiche Veröffentlichungen erschienen, und in einer rasch steigenden Zahl von ausgeführten Siedlungen sind praktische Belege für die Vorzüge der einen oder der anderen Bauweise geliefert.

Verhältnismäßig selten ist aber die Frage erörtert, wie solche Kleinhäuser am besten zu *lüften* sind. Bei ganz freistehenden Ein- oder Zweifamilienhäusern unter ländlichen Verhältnissen tritt diese Frage mit Recht mehr in den Hintergrund. Hier darf ein hinreichender Luftwechsel durch die zufälligen Ritzen und Fugen an Fenstern und Türen vorausgesetzt werden, und die Bewohner sind durch ihren Beruf auf längeren Aufenthalt im Freien angewiesen oder haben es so leicht, in nächster Nähe des Hauses die Luft im Freien zu genießen, daß ein Bedürfnis nach besonderen Lüftungseinrichtungen kaum fühlbar wird. Aber zur Zeit handelt es sich um größere Siedlungen in der Umgebung von *Großstädten* und in der Nähe von *Industriebetrieben*, bei denen Tausende von Menschen in Kleinhäusern unterzubringen sind, und die



Bebauung kann hier nicht beliebig weiträumig sein, sondern kleine Abstände der Häuser oder Reihenbauten sind nötig, wenn nicht gar zuviel Bauland beansprucht und die Straßenlängen nicht übermäßig ausgedehnt werden sollen. Bei diesen Siedlungen, die für die vorliegenden Untersuchungen ausschließlich in Betracht gezogen sind, erheischt auch die Lüftung der bewohnten Räume entschieden Berücksichtigung; und andererseits ist von vornherein anzunehmen, daß für Kleinhäuserlüftung keineswegs die gleichen Gesichtspunkte in Betracht kommen wie für großstädtische Mietshäuser. Um in dieser Beziehung Unterlagen für eine richtige Stellungnahme zu gewinnen, wird es zunächst nötig sein, die im *gesundheitlichen* Interesse zu stellenden Anforderungen an die Lüftung von Kleinhäusern genauer darzulegen.

A. Hygienische Anforderungen an Lüftungsanlagen.

Bekanntlich[1]) bedarf es *nicht* etwa einer Lüftung, um den durch die Atmung verbrauchten Sauerstoff zu ersetzen oder die von Menschen oder Leuchtflammen gelieferte Kohlensäure fortzuschaffen. Beide Veränderungen der Luft erreichen in den üblichen Wohnungen keine für die Bewohner zur Belästigung oder Gesundheitsschädigung führende Steigerung. Auch die in den Zimmern gegenüber der Außenluft vermehrte Wärme bedarf meistens keiner Fortführung durch Lüftung; nur im Hochsommer kann die Besonnung der Mauern die Innenräume gelegentlich so stark erwärmen, daß eine Abkühlung durch Lüftung erwünscht ist. Gerade in den Räumen des höchstens zweigeschossigen Kleinhauses wird aber diese Wärmesteigerung verhältnismäßig wenig hervortreten; und besteht z. B. am Abend eines heißen Sommertages der Wunsch nach stärkerer Lüftung, so läßt sich diese gerade hier durch weit offene Fenster und Türen leicht herstellen, weil die Bewohner einer Kleinhaussiedlung eher als die Bewohner von Mietskasernen in der Lage sind, sich eine kurze Zeit im Freien aufzuhalten und dem unbehaglichen Aufenthalt im zugigen Zimmer zu entziehen.

Den eigentlichen Anlaß zur Lüftung geben andere Veränderungen der Wohnungsluft. Zunächst die *riechenden*, gasförmigen Stoffe, welche durch die Atmung und Hautausdünstung der Bewohner, durch getragene Kleider, schmutzige Wäsche usw. geliefert werden. Eine belästigende Ansammlung dieser Gerüche ist am häufigsten in den Schlafräumen zu beobachten, die in Kleinhäusern einen nur sehr geringen Luftraum pro Kopf zu bieten pflegen, und die anhaltend 8 bis 10 Stunden besetzt sind, ohne daß irgendein Luftwechsel statthat. Die üble Beschaffenheit der Luft in solchen Schlafräumen fällt jedem auf, der gegen Morgen den Raum betritt. Kommen Krankheiten oder

[1]) Siehe die Lehrbücher der Hygiene von *C. Flügge, Gärtner, Prausnitz, H. Selter* u. a.



Wochenbetten vor, so häufen sich noch mehr Gerüche und erregen bei dem Eintretenden Ekelgefühl, das zu flacher Atmung und Widerwillen gegen Nahrungsaufnahme Anlaß gibt und sich bis zur Übelkeit steigern kann. Bei den dauernd in solchem Raum sich aufhaltenden Menschen treten zwar keine akuten Störungen des Wohlbefindens auf, aber es fehlt doch an der durch frische Luft gebotenen Anregung zu tiefer Atmung. — Auch in den Wohnräumen kommt es bei dauerndem Aufenthalt und in der Heizperiode, wo die Räume völlig geschlossen gehalten werden, zu einer erheblichen Ansammlung belästigender Gerüche. — Eine andere Art von Gerüchen entsteht in der Küche beim Kochen von Kohl und Rüben, beim Aufwaschen des Geschirrs usw., und da im Kleinhaus der Wohnraum in enger Verbindung mit Küche und Aufwaschraum zu stehen pflegt oder von diesem überhaupt nicht getrennt ist, muß Vorsorge getroffen werden, daß auch der Gehalt der Luft an so entstandenen riechenden Gasen nicht eine zu unangenehme Steigerung erfährt.

Noch mehr Belästigungen und Schädigungen gehen von dem *Wasserdampf* aus, der sich in solchen Wohnräumen ansammelt. Er entstammt einmal der Atmung und Hautausdünstung des Menschen; und bei starker Besetzung der Wohnräume, wie sie in Kleinhäusern fast immer vorliegt, kann man rechnen, daß wenige Stunden ausreichen, um die Luft des abgeschlossenen Raumes völlig mit Wasserdampf zu sättigen. Dazu kommt dann noch der Wasserdampf, der beim Kochen, Waschen, Trocknen von Wäsche entsteht, und der zeitweise in solchen überschüssigen Mengen auftritt, daß Niederschlag nicht nur an den Fenstern, sondern auch an kalten Wandteilen erfolgt und daß sogar in der Luft Nebelbildung wahrzunehmen ist. Durchschnittlich hat man in Kleinhäusern mit außerordentlich hohen Graden von Luftfeuchtigkeit zu rechnen.

Dadurch entsteht eine erhebliche Belästigung und Gesundheitsschädigung der Bewohner. Wir befinden uns nur wohl und behaglich in einer Luft von nicht mehr als 50—60 % Feuchtigkeit. Darüber hinaus tritt bei mittlerer Zimmertemperatur ein Gefühl von Unbehagen und Beklemmung ein, für das nicht alle, aber die meisten Menschen sehr empfänglich sind; bei höherer Wärme kommt es sogar zu Erscheinungen von Wärmestauung mit Kopfdruck, Schwindel, Ohnmachten. Hält die Wasserdampfsättigung längere Zeit an, so werden Kleider, Betten und alle wasseranziehenden Gegenstände feucht; auch die Wäsche und Kleidung, die der Mensch trägt, wird anhaltend feucht, die Haut kann infolgedessen nicht abdunsten und bleibt ebenfalls ständig feucht. Von Menschen, die in solcher Umgebung sich dauernd aufhalten, wird kühlere und bewegte Luft höchst unangenehm empfunden; sie schützen sich ängstlich vor jeder solchen Abkühlung.



Dadurch verliert die Haut allmählich ihre Reaktionsfähigkeit, sie wird „verweichlicht“, und es entsteht eine Anlage zu Erkältungskrankheiten und Katarrhen mit stark chronischem Verlauf.

Weitere Gesundheitsschädigungen stellen sich ein, wenn Niederschlag von Wasserdampf an kälteren Stellen der Wohnung stattfindet. Gerade in *Kleinhäusern* ist dies besonders leicht der Fall, weil es sich zum größten Teil um Erdgeschoßwohnungen handelt, die gemäß den neuerdings vom Reichswohnungskommissar erlassenen „Bauerleichterungen für Kleinwohnungsbauten“[1]) nicht einmal unterkellert zu sein brauchen. In solchen Wohnungen wird es in unserem Klima, namentlich in der zweiten Hälfte des Winters und im Frühjahr, wo die Temperaturen im oberflächlichen Boden ihren tiefsten Stand erreichen, zu einer starken Auskältung des Fußbodens und der unteren Wandteile kommen; und an diesen Stellen, ebenso an den dort befindlichen Möbeln, Betten usw. muß sich fortgesetzt Wasserdampf aus der für höhere Temperaturgrade gesättigten Luft niederschlagen. Allmählich entsteht auf diese Weise eine Durchfeuchtung der kältesten Wand und der in ihrer Nähe befindlichen Gebrauchsgegenstände; von den Möbeln lösen sich die Fourniere ab, die Betten nehmen einen muffigen Geruch an, Stiefel und Tapeten zeigen Schimmelbildung — kurz, es bilden sich die Charaktere der „feuchten Wohnung“ aus. Das ist dann aber eine Erscheinung, welche die Bewohner in argen Schrecken versetzt; es gilt das in ihren Augen als einer der schwersten Fehler, den eine Wohnung haben kann. Nicht nur, daß das Eigentum an Möbeln, Betten usw. geschädigt wird; auch in Laienkreisen weiß man sehr wohl, daß in feuchten Wohnungen das Leben bedroht wird durch rheumatische und Nierenleiden, die durch die ungewöhnlichen Entwärmungsverhältnisse erzeugt oder verschlimmert werden.

Daß gerade in Kleinhäusern leicht ungewöhnliche Feuchtigkeit auftritt, ist z. B. von *Nitsch* in der Mustersiedlung Staaken[2]) beobachtet. In den nächsten Jahren wird mit diesem Fehler sogar noch mehr als bisher gerechnet werden müssen, weil jetzt eine anhaltende kräftige Heizung so besonders erschwert ist, die das beste Schutzmittel gegen den Niederschlag von Wasserdampf an Wänden und Gegenständen darstellt.

Auch der übermäßigen Feuchtigkeit der Wohnungsluft und der Entstehung von feuchten Wohnungen läßt sich am besten durch eine *Lüftung* der Wohnräume vorbeugen; und außer der Beseitigung der riechenden Gase hat somit die Lüftung die *zweite* wichtige Aufgabe, überreichliche Wasserdampfmengen aus der Wohnungsluft fortzuschaffen.

[1]) Baupolizeirechtliche Vorschriften, Berlin, Heymann, 1919, S. 3.

[2]) Zeitschr. f. Hygiene 88, 329.



Aus den im vorstehenden dargelegten gesundheitlichen Aufgaben der Lüftung ergeben sich zwanglos die *Anforderungen*, welche im Sinne der Gesundheitspflege an die Lüftungseinrichtungen des Kleinhauses zu stellen sind.

Eine Forderung wird dahin gehen müssen, daß die Lüftung in dauernd besetzten Räumen nicht nur in Abständen für kurze Zeiten, sondern möglichst als Dauerlüftung betrieben werden kann. Die beiden oben aufgeführten Arten von Luftverschlechterung, die eine Lüftung von Schlafzimmern und geschlossenen Wohnräumen nötig machen — die Ansammlung von ekelerregenden Gerüchen und die Steigerung des Wasserdampfgehaltes der Luft —, entwickeln sich nicht stoßweise, sondern allmählich und oft gerade zu Zeiten, wo zeitweises Lüften ausgeschlossen ist, z. B. während der Abend- und Nachtzeit. Nur die Wasserdampf- und Geruchsentwicklung in der Küche geht zeitweise und mit wechselnder Stärke vor sich; aber auch hier kann es, falls nicht erhebliche Zuglüftung angewendet wird, bei plötzlichem Eintritt kalter Außenluft gerade zu starker Verdichtung des Wasserdampfes und Durchfeuchtung von Wänden und Gegenständen kommen. Eine wirtschaftlich brauchbare Lüftung soll darauf abzielen, daß eine Sättigung der Luft mit Wasserdampf und eine Wahrnehmbarkeit übler Gerüche gar nicht zustande kommt; und das ist nur dadurch zu erreichen, daß frische Luft *allmählich* in dem Maße zutritt, wie die Luftverunreinigungen entwickelt werden. Außerdem läßt nur eine anhaltende maßvolle Lüftung den behaglichen Aufenthalt der Bewohner unberührt; plötzliche stärkere Lüftung ist leicht mit Belästigung und im Winter auch mit Erkältungsgefahr, namentlich für kleinere Kinder, verbunden. Damit soll keineswegs gesagt sein, daß gelegentlich, und namentlich in der warmen Jahreszeit, nicht auch ganze Fensterflügel zeitweise geöffnet werden sollen. Das ist etwas Selbstverständliches, was je nach der Eigenart der Bewohner bald mehr, bald weniger durchgeführt werden wird. Unser hauptsächlichstes Bestreben muß aber immer darauf gerichtet sein, im ganzen Jahr, namentlich auch zur Nachtzeit, eine Sicherung gegen übermäßige Luftverunreinigung herbeizuführen; gerade in diesem Sinne wird erst die Lüftung hygienisch wirklich bedeutungsvoll.

Zweitens muß die *Richtung* des durch die Lüftung bewirkten Luftstromes zweckentsprechend sein, und zwar wünschen wir für die Wohnräume im allgemeinen Überdrucklüftung, die der an bestimmter Stelle einströmenden Außenluft das Übergewicht sichert und die Außenluft rein und unvermischt einströmen läßt. Nur für Räume und Zeiten mit zeitweiser besonders starker Wasserdampf- oder Geruchsentwicklung erklärt man Unterdrucklüftung für angezeigt, bei der die Fortführung dieser Luftverunreinigungen ins Freie in erster Linie steht.

Überdrucklüftungen würden in letzterem Falle unangebracht sein, weil sie die Gefahr mit sich bringen, daß die übeln Dünste durch den eintretenden Überdruck in die übrigen Teile des Hauses getrieben werden; andererseits befürchtet man bei andauernder Sauglüftung der Wohnräume ohne besondere Einströmöffnungen das Eindringen übler Gerüche mit der vom Treppenhaus, Flur, Nachbarwohnungen und auch von Küche und Abort durch die verschiedensten Undichtigkeiten zuströmenden Luft. Im Kleinwohnhaus wird die Küche, die zugleich zum Waschen dient, unbedingt mit Unterdrucklüftung zur zeitweisen Beseitigung von übermäßigem Wasserdampf zu versehen sein; auch für den Abort kann sie in Betracht kommen; im übrigen gibt man für Wohn- und Schlafräume einer Zufuhr frischer Luft durch Überdrucklüftung auf Grund der bisherigen Erfahrungen den Vorzug.

Eine dritte Forderung ist die, daß die Bewohner durch die Lüftung nicht mit „Zugluft" bedroht werden. Trifft ein kühlerer Luftstrom eine begrenzte Stelle der menschlichen Körperoberfläche längere Zeit hindurch, so kommt es nach Annahme der meisten Hygieniker leicht zu einem Versagen jener Reaktion der Blutgefäße der Haut, durch welche sich der Mensch gegen Kälteeindrücke von der Haut aus zu schützen vermag; es entsteht lästige Kälteempfindung, und bei anhaltender Einwirkung oder öfterer Wiederholung können sich daran Erkältungskrankheiten anschließen. Ruhig sitzende Menschen sind am meisten gefährdet; durch Gewöhnung und Abhärtung kann zwar die Empfindlichkeit sehr stark abgestumpft werden; aber gerade unter den Bewohnern der Kleinhäuser pflegt es viele zu geben, die durch langen Aufenthalt in feuchtwarmer Luft und wenig Gelegenheit zur Abhärtung besonders empfindlich geworden sind. Wir werden daher fordern müssen, daß allzu große Temperaturunterschiede zwischen Außen- und Innenluft möglichst ausgeglichen werden. Im Winter wird für den Wohnraum bei länger andauernder Überdrucklüftung eine Vorwärmung der ins Zimmer eintretenden Luft meist nicht zu umgehen sein.

Auch die *Verteilung* des eintretenden kälteren Luftstromes im Zimmer wird aus den gleichen Gründen beachtet werden müssen. Der Strom soll, da er gewisse Abweichungen von der Temperatur des Innenraumes fast immer zeigen wird, womöglich nicht zu rasch und ohne Anpassung an die Zimmertemperatur bis in Kopfhöhe gelangen; und er soll sich andererseits nicht zu schnell auf den Fußboden senken und sich hier ausbreiten, so daß die Füße der sitzenden Bewohner fortgesetzt einer starken Abkühlung ausgesetzt sind.

In den Schlafräumen, wo der Körper im Bett gegen kühlere Luftströme gut geschützt ist, erübrigt sich eher eine Vorwärmung. Sie wird ferner unnötig bei einer Verteilung der zutretenden Außenluft

auf *zahlreiche kleine* Öffnungen. In dieser Beziehung ist die Unterdrucklüftung ohne besondere Gegenöffnung günstiger als der Eintrieb von Luft durch eine größere Öffnung. Bei ersterer strömt die Außenluft durch die verschiedensten kleinen Öffnungen nach, und nur in deren nächster Nähe und wenn ihr Querschnitt eigentlich schon über das zulässige Maß hinausgeht, kann hier eine Zugempfindung zustande kommen.

Viertens darf die Lüftung eines Kleinhauses sowohl in der Anlage wie im Betrieb nur sehr geringe Kosten verursachen. Von allen besonderen Motoren, Antrieb durch Elektrizität, Wasser, eigens für diesen Zweck hergestellter Wärme ist von vornherein abzusehen. Nur mit Hilfe des Windes oder vorhandener Temperaturunterschiede ist die Luftzufuhr zu bewirken, und die Herstellung der Wege für eine Luftförderung durch diese Kräfte darf ebenfalls nur wenig Kosten verursachen.

B. Die Deckung des Lüftungsbedarfs.

Man könnte zunächst daran denken, mit der *natürlichen*, ohne unser Zutun sich vollziehenden Lüftung der Kleinhäuser vorliebzunehmen, von der man früher angenommen hat, daß sie sich durch die Poren der aufgehenden Mauern des Hauses vollzieht. Auf diesen Luftaustausch, das sog. Atmen der Wände, legt man seit dem berühmten Durchblaseversuch *Pettenkofers* durch einen Ziegelstein immer noch großen Wert. Insbesondere wird es als ein wichtiger Vorzug der porösen Baumaterialien (z. B. des Rheinischen Schwemmsteines) hervorgehoben, daß sie den Luftaustausch zwischen dem Innern der Wohnräume und der Außenluft unterstützen [*Nussbaum*[1])]. Diese „Atmung" der Wände spielt aber in Wirklichkeit keine Rolle. Wie früher *Lang*[2]), *v. Thielemann*[3]) und neuerdings *Korff-Petersen*[4]) nachgewiesen haben, ist der Luftaustausch durch die aufgehenden Wände, auch wenn grobporiges Material verwendet ist, sehr gering; Bewurf und Anstrich heben die Durchgängigkeit fast völlig auf, und die einzigen Wege, auf denen ein gewisser Austausch der Luft zustande kommt, sind die Undichtigkeiten an Fenstern und Türen, die bald mehr, bald weniger vorhanden zu sein pflegen und mit deren Wirksamkeit selbstverständlich nicht mit Sicherheit zu rechnen ist. Im Laboratorium kann allerdings am einzelnen Schwemmstein, wie *Korff-Petersen* gezeigt hat, eine Luftdurchlässigkeit festgestellt werden, welche diejenige der anderen Baustoffe weit übertrifft; aber unter den Verhältnissen der Praxis haben Kleinhäuser aus Schwemmstein durchaus kein stärkeres, natürliches

[1]) Hygiene des Wohnhauses, Handb. d. Hygiene 4.
[2]) Über natürliche Ventilation, Stuttgart 1897.
[3]) Ges.-Ing. 1915, Nr. 23.
[4]) Zeitschr. f. Hygiene 89.



Lüftungsvermögen gezeigt als Ziegelsteinhäuser. Wir werden daher in Wirklichkeit von der sog. natürlichen Lüftung ganz absehen und uns bemühen müssen, einen befriedigenden Luftwechsel zu erzielen mit Hilfe von absichtlich angebrachten *künstlichen* und willkürlich regulierbaren Öffnungen, an denen wir den Wind oder gegebene Wärmeunterschiede als treibende Kraft wirken lassen.

In *erster* Linie wird versucht werden müssen, einfach durch Öffnen der vorhandenen Fenster die Aufgabe zu lösen, und zwar kann dafür entweder zeitweise Zuglüftung oder einseitige Öffnung ganzer Fensterflügel bzw. kleinerer Fensterabschnitte, vielleicht auch Benutzung besonderer Lüftungsöffnungen in den aufgehenden Wänden, in Frage kommen. *Zweitens* ist zu prüfen, inwieweit die vorhandenen Wärmeunterschiede zur Lüftung ausgenutzt werden können. Und *drittens* ist daran zu denken, den über Dach hinstreichenden, stärkeren Wind zu einer Unterdrucklüftung zu verwerten.

I. Fensterlüftung.

Versucht man sich Rechenschaft darüber zu geben, inwieweit diese einfachste und häufigste Art der künstlichen Lüftung den oben angeführten gesundheitlichen Anforderungen entspricht, so stellt sich heraus, daß wir über ihre Vorteile und Nachteile erstaunlich wenig unterrichtet sind. Wir wissen nicht, ob sie vorzugsweise auf Überdruck oder Unterdruck oder auf beiden beruht; auf einen wie reichlichen Luftwechsel wir dabei rechnen dürfen; wie die Verteilung des Luftstromes im Zimmer sich gestaltet; welchen Einfluß Größe, Höhenlage und Gestalt der Öffnung hat; in welchen Grenzen eine Dauerlüftung empfehlenswert ist u. a. m. Ich habe daher vor allem versucht, zunächst einige durch Versuche gesicherte Unterlagen zur Beurteilung der Fensterlüftung zu beschaffen und möchte über die dabei erhaltenen Ergebnisse kurz berichten.

1. Zeitweise Zuglüftung durch Fenster.

Schon bei der Aufzählung der hygienischen Anforderungen an die Lüftung wurde betont, daß im allgemeinen eine *Dauer*lüftung *ohne Zug*erscheinungen angestrebt werden muß. Zweifellos wird aber zuweilen das Bedürfnis nach zeitweiser starker Durchlüftung vorliegen, wenn z. B. durch Kochen von Kohl, Anbrennen von Milch u. dgl. besonders reichlich üble Gerüche, oder beim Klopfen von Polstermöbeln starke Staubwolken entstanden sind, oder wenn übermäßige Wärme im Wohnraum angesammelt ist. Es wird dann als angenehm empfunden werden, wenn binnen wenigen Minuten durch stärkste Querlüftung die Übelstände gründlich beseitigt werden können.

Aber im ganzen wird von der Querlüftung, auch wenn sie durch gegenüberliegende Fenster sich leicht herstellen läßt, doch sehr selten



Gebrauch gemacht. In den Kleinhäusern der Arbeiterstadt Staaken bei Spandau, wo durchweg Fensterquerlüftung vorgesehen ist, ergab eine Umfrage, daß diese nur ganz ausnahmsweise, meist kaum ein- oder zweimal im Jahr, in Gang gesetzt wird. Der Grund liegt darin, daß während einer solchen Lüftung das Zimmer in der Regel nicht bewohnt werden kann wegen der stark belästigenden Zugerscheinungen, gegen welche die Bewohner der Kleinhäuser sehr empfindlich zu sein pflegen. Wenn trotzdem hier und da die Zuglüftung als eine in gesundheitlicher Beziehung besonders bedeutsame Maßnahme hingestellt wird, so haben wohl die in den Schulen gemachten Erfahrungen zu einem Mißverständnis Anlaß gegeben. In den Schulen liegt ein Betrieb mit regelmäßigen Pausen vor, während deren das Zimmer unbewohnt ist; und dann ist es in der Tat das einfachste, die Pausen zu kräftiger Zuglüftung zu benutzen, die nicht nur die Luft rasch erneuert, sondern auch den in Schulräumen besonders reichlichen Staub entfernt. Aber daraufhin für dauernd bewohnte Räume gleichfalls zeitweise kurzdauernde Zuglüftung als hauptsächlichsten Lüftungsmodus zu empfehlen, würde entschieden unrichtig sein.

Vollends unbegründet ist es, wenn sogar die leichte Durchführbarkeit einer Querlüftung durch Fenster für ein gesundheitlich so wichtiges Erfordernis gehalten wird, daß der Grundriß jeder Kleinwohnung darauf zugeschnitten sein soll. Es ist neuerdings von mehreren Seiten die Forderung ausgesprochen, daß alle Grundrisse von vornherein abgelehnt werden, in welchen nicht durch Öffnen gegenüberliegender Fenster zweier aneinander grenzender Räume und gleichzeitiges Öffnen der zwischen diesen Räumen liegenden Tür eine direkte Zuglüftung hergestellt werden kann [*Nussbaum*[1]), *Eberstadt*[2]), *Prausnitz*[3])].

Sitte[4]) hat mit Recht darauf hingewiesen, daß den sog. schlechten, eine Querlüftung ausschließenden Grundrissen noch ganz andere unangenehme Folgeerscheinungen anhaften, die den wesentlichen Grund für ihre ungünstige Bewertung liefern. Vor allem ist die einseitige Orientierung der Fenster und die Möglichkeit einer reinen Nordlage aller Fenster zu beanstanden; ferner ist es unerwünscht, wenn die einen Wohnungen Fenster *nur* nach der Straße, die anderen *nur* nach dem Hof und Garten haben; und drittens leistet ein solcher Grundriß schlechte Verbindung der einzelnen Räume untereinander.

Alle diese Nachteile wiegen schwerer als das Fehlen der Durchlüftbarkeit, zumal im Kleinhause, wo die Zuglüftung auch bei ungünstigem Grundriß ohne alle Schwierigkeiten hergestellt werden kann, indem

---

[1]) *Nussbaum*, Hygiene des Wohnhauses. 1896.

[2]) *Eberstadt*, Handbuch des Wohnungswesens, 3. Aufl. 1820.

[3]) *Prausnitz*, Arch. f. Hygiene. Bd. 88. 1918.

[4]) *Sitte*, Zeitschr. d. Österreich. Ingenieur- u. Architekturvereins 1910, Nr. 23.

die Tür nach dem Flur und erforderlichenfalls noch das Flurfenster oder die Haustür als Gegenöffnung benutzt wird.

Überhaupt ist es für Kleinhäuser viel leichter, Grundrisse mit einseitiger Orientierung der Räume zu vermeiden, und es ist daher ziemlich selbstverständlich, daß hier ein Grundriß mit Querlüftbarkeit gewählt wird. Aber es würde unrichtig sein, dies als schwerwiegenden hygienischen Vorteil zu registrieren und die Lüftungsfrage mit einer solchen Anordnung der Fenster als erledigt anzusehen. Dazu tritt die Querlüftung doch zu selten in Gebrauch und ist zu leicht auch auf andere Weise in ausreichendem Maße herzustellen. Der Schwerpunkt der im gesundheitlichen Interesse vorzunehmenden Lüftung muß vielmehr in Einrichtungen liegen, welche für längere Zeiträume und ohne Störung der im Zimmer befindlichen Menschen in Tätigkeit gesetzt werden können.

2. Einseitige Fensterlüftung.

Über diese habe ich in einigen Zimmern des Berliner Hygienischen Instituts Versuche angestellt. Ich konnte dabei Ergebnisse von ähnlichen, aus anderen Gesichtspunkten unternommenen Versuchen benutzen, die bereits vorher von dem Abteilungsvorsteher am Hygienischen Institut, Professor *Korff-Petersen*, und dem damaligen Assistenten *Dr. H. Lange*, ausgeführt waren. Beiden möchte ich auch an dieser Stelle für die freundliche Überlassung ihrer Ergebnisse und für die Hilfeleistung bei der Fortsetzung der Versuche aufrichtig danken.

Das eine Zimmer befand sich im zweiten Stock eines Eckhauses, hatte 130 cbm Inhalt; zwei Fenster lagen an der Westfront, eins nach Süden. Durch die Kreuzung zweier breiter Straßen waren die Fenster ungehindert den West- bzw. Südwinden ausgesetzt. Eines der Westfenster wurde zu den Versuchen benutzt. Zwei Türen nach den Nebenzimmern und die anderen Fenster waren abgedichtet. In der Mehrzahl der Versuche entsprach die ins Freie gehende Öffnung einem Fensterflügel von 40 × 84 cm Fläche. — In den späteren, im Frühjahr 1920 angestellten Versuchen wurde auch ein Südzimmer von 52 cbm Inhalt benutzt, das nur ein Fenster von der gleichen Größe wie das beschriebene und nach Süden gerichtet enthielt.

Zur Beobachtung der Geschwindigkeit der Luftströme standen mir Differentialmanometer nach *Recknagel* und Anemometer von *Fuess* zur Verfügung. Erstere erwiesen sich als für diesen Zweck nicht geeignet; sie liefern nur brauchbare Werte, wenn für einige Zeit ein Beharrungszustand eintritt; bei meinen Versuchen wechselten die Druckverhältnisse zu häufig und zu plötzlich. — Ich habe daher nur mit dynamischen Anemometern gearbeitet. Von diesen wurden neun geeichte Instrumente gebraucht, die für die Versuche mit dem großen Fenster in einem für die Fensteröffnung passenden Rahmen vereinigt





waren. Da sich schon in den ersten Versuchen zeigte, daß die Geschwindigkeit und zum Teil auch die Richtung der Luftströmung häufig wechselte, wurden stets hintereinander 15 Beobachtungen von je $^1/_2$ Minute Dauer gemacht; und im Anschluß an diese Einzelbeobachtungen wurde ein Durchschnittswert erhoben, indem die Anemometer 15 Minuten lang fortdauernd liefen. Wenn bei den letztgenannten Versuchen einige Anemometer bald rückwärts, bald vorwärts liefen, so konnte das insofern den Durchschnittswert nicht wesentlich beeinträchtigen, als die Korrektionskonstanten für beide Richtungen fast gleich sind. Der Wechsel der Stromrichtung war aber immer mit einer starken Abschwächung der Stromstärke verbunden, so daß die Empfindlichkeit der Instrumente nicht mehr ausreichte; und insofern konnten derartige Versuche beanstandet werden.

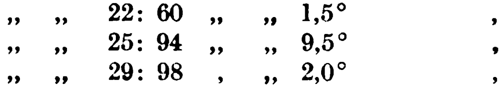
Es zeigte sich, daß im Mittel bei 30 im Spätsommer und Herbst 1919 an verschiedenen Tagen vorgenommenen Versuchen durch die große Öffnung 240 cbm Luft pro Stunde einströmten und 140 cbm ausströmten; ferner wurden bei 15 im Frühjahr 1920 angestellten Versuchen in der Stunde 205 cbm Einstrom und 108 cbm Ausstrom gefunden. Der Einstrom überwog also erheblich, und mehr als ein Drittel der einströmenden Luft muß seinen Austritt auf anderen Wegen — Fugen und Ritzen der Türen und geschlossenen Fenster — gefunden haben.

Ferner zeigte sich, daß für den *Ein*strom vorwiegend der *untere* Teil des Fensters dient, während der *Aus*strom sich im *oberen* Teil herstellt. Dazu gesellt sich ein Einfluß der Windrichtung insofern, als der in der Windrichtung äußerste Seitenteil der Öffnung den stärksten Einstrom liefert; bei SW fand ich demnach in der nördlichen unteren Ecke die höchsten Einstromzahlen.

Auf die *Menge* der Luft*zufuhr* hatten verschiedene Momente Einfluß. Relativ wenig die Temperaturlage und die Temperaturunterschiede zwischen außen und innen. In Räumen ohne größere Luftöffnungen ist das Temperaturgefälle bekanntlich von sehr erheblicher Bedeutung; sind aber größere Öffnungen vorhanden, dann überwiegen an diesen andere Einflüsse leicht so sehr, daß der Wärmeunterschied nur eine geringe Rolle spielt. Höchste Einstromwerte wurden z. B. gefunden:

in Vers.	4:	595	cbm bei	1,0°	Temperaturunterschied,
„ „	9:	300	„ „	0,0°	„
„ „	14:	300	„ „	1,0°	„
„ „	32:	422	„ „	1,5°	„

und niedrigste Werte:



in Vers.	12:	69	cbm bei	0,5°	Temperaturunterschied,
„ „	22:	60	„ „	1,5°	„
„ „	25:	94	„ „	9,5°	„
„ „	29:	98	, „	2,0°	„



Sehr unregelmäßig war der Einfluß der *Windstärke*. Im allgemeinen entsprach allerdings der größeren Windgeschwindigkeit ein stärkerer Luftwechsel; aber im einzelnen fehlte oft der erwartete Parallelismus. Zum Teil liegt dies sicher an der Schwierigkeit, die Geschwindigkeit des augenblicklich von außen auf die Luftströmung auftreffenden Windes richtig zu messen. Anfangs haben wir nur die auf der Berliner meteorologischen Station am gleichen Tage festgestellten Windstärkezahlen zum Vergleich herangezogen. Aber die zeitliche Verschiebung und namentlich auch die örtliche Beeinflussung durch die Einschaltung der Straßenreihen lassen eine häufige starke Verschiedenheit zwischen der zur Beobachtungsstunde an der Station und der mehrere Stunden vor- oder nachher in der Nähe der Lüftungsöffnung auftretenden Windstärke als selbstverständlich erscheinen. Es wurde daher versucht, mit Hilfe eines selbsttätig schreibenden Anemometers (nach *Combes*), das auf einem aus dem Fenster unseres Versuchszimmers vorgeschobenen Brett befestigt war, die Windstärke an Ort und Stelle zu bestimmen. Aber es zeigte sich, daß gerade innerhalb der städtischen Straßen die kleinsten örtlichen und zeitlichen Verschiebungen so bedeutende Unterschiede der Windstärke bewirkten, daß die beobachtete Geschwindigkeit erst recht nicht für die an der Öffnung zur Wirkung gelangende maßgebend war. Es erschien schließlich immer noch richtiger, den mittleren Ausdruck für die im allgemeinen herrschende Windgeschwindigkeit, wie er in den meteorologischen Mitteilungen gegeben wird, zum Vergleich heranzuziehen. Hierbei ergab sich, daß in der Tat bei den höchsten, während der Versuchsreihe vorgekommenen Windstärken (4—5 der achtstufigen Skala) auch die höchsten Zahlen — 595, 332, 506, 470 cbm — für den Einstrom beobachtet wurden; aber auch bei Windstärke 2—3 wurden gelegentlich 420, 479 cbm aufgezeichnet; und bei noch geringeren Windstärken trat ein Parallelismus überhaupt nicht mehr hervor.

Den zweifellos *deutlichsten Einfluß* auf die Luftförderung hatte die Wind*richtung*. Dies war von vornherein zu erwarten, und deshalb war das Versuchszimmer so gewählt, daß es nach Westen und Süden geeignete Öffnungen bot; denn diese Windrichtungen überwiegen bekanntlich in unserem Klima bedeutend, und nur an Fenstern, die einigermaßen frei von West- und Südwinden getroffen werden, durften wir hoffen, fortlaufende, vergleichbare Beobachtungen anstellen zu können. Im Mittel herrschen in Berlin in $^2/_3$ des Jahres West- und Südwinde, in $^1/_3$ Ost- und Nordwinde; 26 % der Windtage zeige reinen Westwind, während z. B. Nordostwinde nur mit 7, Nordwinde mit 5 % beteiligt sind. Jahreszeitlich herrschen bei uns im Sommer und Frühherbst Westwinde vor, während Ostwinde verhältnismäßig am stärksten im Februar bis Mai auftreten. Abweichungen von dieser Regel kommen indes häufig vor.



Bei *westlichen* und *südlichen* Winden war an unserer Versuchsöffnung stets kräftiger Einstrom zu beobachten, und dann war auch bei stärkerer Bewegung der Luft der Luftstrom einigermaßen nach der Windstärke abgestuft. Bei östlicher Windrichtung, von der die Versuchsöffnungen abgewandt lagen, trat namentlich der Einstrom stark zurück, der Ausstrom überwog. So förderte in Vers. 22 der Einstrom 60, der Ausstrom 151 cbm; in Vers. 25 der Einstrom 94, der Ausstrom 211 cbm; diese absaugende Wirkung des Windes hat aber im allgemeinen einen *weniger kräftigen* Luftwechsel zur Folge; außerdem wird die *Beschaffenheit* der Luft von den vorgelagerten Teilen des Hauses beeinflußt; man pflegt die unmittelbar aus dem Freien ins Zimmer eintretende Luft zu bevorzugen. Nach Westen oder Süden gerichtete Öffnungen haben mindestens die doppelte Aussicht, eine ausgiebige Zufuhr reiner Außenluft zu liefern, als Öffnungen an der Ost- und Nordwand eines Hauses.

In einzelnen Versuchen zeigten sich scheinbare Ausnahmen von der Regel; so war in Vers. 23 bei Südostwind, Stärke 2, 174 cbm Einstrom gegenüber 25 cbm Ausstrom festzustellen; in Vers. 24 bei Ostwind, Stärke 3, ein Einstrom von 263 cbm neben 21 cbm Ausstrom; also kein Unterdruck, sondern ganz überwiegend Überdruck. Dies erklärt sich daraus, daß auch die Wind*richtung* nicht nur aus den Mitteilungen der Metereologischen Station entnommen werden durfte, sondern daß in der Nähe der Öffnung, wie durch eigene Beobachtungen festgestellt wurde, die östlichen Winde öfter eine Brechung an der gegenüberliegenden Häuserreihe erfuhren und als *West*wind von mäßiger Stärke die Öffnung trafen.

Neben den Mengenverhältnissen war noch die Art der *Luftverteilung* im Zimmer unter dem Einfluß der Fensterlüftung zu beachten. Zunächst läßt das meist vorhandene starke Überwiegen des Einstroms über den Ausstrom an die Möglichkeit denken, daß letzterer großenteils nur auf Wirbelbildung beruht und nicht der Ausdruck eines Wechsels der Luft im Innern des Zimmers ist. Der heftige Einstrom an dem vom Winde abgekehrten Teil des Fensters muß von der Luft des angrenzenden Fensterteils Teilchen mitreißen und dadurch eine Druckverminderung erzeugen, die einen Ausstrom herbeiführt; und dieser würde dann nicht eigentlich einer Lüftung des Zimmers entsprechen. Aber einige Versuche zeigten mir, daß man in der Regel doch auch mit einem relativ schnellen Eindringen der Frischluft in die Tiefe des Zimmers und mit einem ziemlich gründlichen Auswaschen der Zimmerluft zu rechnen hat. Füllte ich nämlich das Zimmer aus einer Bombe mit Kohlensäure, bis der Gehalt der Luft etwa 2 % betrug, so fand ich zwei Minuten nach der Füllung (mittels der *Pettenkofer*schen Methode) in der Nähe der hinteren Zimmer-



wand und in mittlerer Höhe 19,6 p. m. CO_2; in der Mitte zwischen Fenster und hinterer Wand 0,68 p. m.; in unmittelbarer Nähe der Fensteröffnung an der Stelle des stärksten Ausstroms 0,34 p. m.; dagegen bereits nach 20 Minuten an letzterer Stelle 1,2 p. m., und nach 30 Minuten hinten im Zimmer und nahe am Fenster fast ganz gleiche Werte.

Von hygienischer Bedeutung erschien ferner noch eine Feststellung, inwieweit im bewohnten unteren Drittel des Zimmers Luftbewegungen von solcher Stärke auftreten, daß sie *Zugerscheinungen* hervorrufen können. Durch besondere Versuche (Zeitschr. f. Hygiene 1897) ist früher nachgewiesen, daß ein Luftstrom von mehr als 10 cm Geschwindigkeit pro Sekunde und von etwa 15° Temperatur an empfindlichen Hautstellen deutliche Zugempfindung veranlaßt. Die schwächsten in dieser Richtung wirksamen Ströme lassen sich aber mit den gebräuchlichen Anemometern nicht messen; diese geben erst Ausschläge von einer Geschwindigkeit von nahezu 20 cm pro Sekunde an. *Fuess* hat neuerdings auch empfindlichere Instrumente hergestellt; sie sind indes nicht für Dauerbeobachtungen eingerichtet und zu teuer, als daß eine größere Anzahl von ihnen zu Versuchszwecken hätte benutzt werden können. Als ungefährer Maßstab lassen sich aber kleine Paraffinkerzen verwenden, deren Flamme in Luft, die mit nicht mehr als 10 cm Geschwindigkeit bewegt wird, ruhig brennt, während bei stärkerer Luftbewegung Ablenkung der Flamme und Flackern zu beobachten ist. Will man sich nicht allein auf dies durch den Augenschein wahrnehmbare Kennzeichen verlassen, so kann man auch die Menge des verbrannten Paraffins durch Wägung bzw. Messung der Länge der Kerzen vor und nach dem Versuch bestimmen; diese ist bei unruhigem Brennen in stärkerer bewegter Luft entsprechend größer.

Demgemäß wurden auf dem Fußboden des Zimmers und in höheren Schichten brennende Paraffinkerzen verteilt. Während starker Luftzufuhr (470 cbm pro Stunde) ließ sich in dieser Weise ein beträchtlicher, ziemlich gleichmäßiger Zug am Fußboden nachweisen, der in radialer Richtung vom Fenster nach allen Seiten ausstrahlte. Bei geringerer Zufuhr, sei es infolge von ungünstiger Windrichtung oder geringerer Windstärke ist die Bewegung am Fußboden schwächer und erstreckt sich namentlich weniger weit ins Zimmer hinein. In 60 cm Höhe über dem Fußboden war bei starkem Zustrom nur in nächster Nähe des Fensters eine schräg nach unten gerichtete Luftströmung wahrnehmbar. In Kopfhöhe war von Luftbewegung nichts nachweisbar. Auffallend war, daß das Anbringen einer Gegenöffnung im unteren Teil der Tür die Luftbewegung am Fußboden in der Richtung vom Fenster in das Zimmer bedeutend abschwächte; dagegen stellte sich nunmehr eine meßbare Strömung von der Tür nach dem Fenster zu



her. In etwas größerer Höhe traten Schwankungen (Wirbel) hervor, die keine Gesetzmäßigkeit erkennen ließen.

3. Lüftung durch kleinere Fensterabschnitte oder Wandöffnungen.

In den bisherigen Versuchen war die den Luftwechsel vermittelnde Öffnung *reichlich groß* bemessen. In der Praxis kann das Öffnen eines ganzen Fensterflügels höchstens bei Sommertemperatur für längere Zeit die Lüftung eines bewohnten Zimmers übernehmen; im weitaus größten Teil des Jahres bewirkt die kühlere Temperatur der einströmenden Luft lästige Zugerscheinungen, die sehr bald Schließung des Fensters veranlassen. Man könnte daran denken, durch häufige Wiederholung einer kurzdauernden Fensterlüftung doch eine Art Dauerlüftung zu erzielen. Aber das erfordert viel zu viel Arbeit seitens der Insassen. Namentlich in Kleinhäusern, deren Bewohner an eine Beeinflussung der Luftbeschaffenheit nicht gewöhnt und von deren hygienischem Wert nicht gerade durchdrungen sind, müssen die Lüftungseinrichtungen bequem gehandhabt werden können; mit einem einzigen unauffälligen Handgriff muß sie sich womöglich an- und abstellen lassen. Das ist bei der Öffnung ganzer Fensterflügel in Kleinwohnungen meist schon deshalb nicht der Fall, weil die Fensterbänke mit allerhand Sachen besetzt zu sein pflegen und erst abgeräumt werden müssen; und ist die Öffnung endlich erreicht, so ist der Einblick der Vorübergehenden von außen her in die ebenerdigen Zimmer der Bewohner störend, oder die Kinder spielen in der Nähe des Fensters und geraten in Gefahr herauszufallen; und so pflegt selbst an Sommertagen nach verhältnismäßig kurzer Zeit der Schluß hergestellt zu werden. Im allgemeinen ist daher diese Art Lüftung wie die Zuglüftung nur als zeitweise, kurzdauernde Lüftung geeignet, und als Dauerlüftung oder für häufige Wiederholung genügt sie nicht. Vielleicht sind aber kleinere Öffnungen, die sich am Fenster oder an den Außenwänden anbringen lassen, leichter zu handhaben und leisten doch noch eine genügende Lüftung. Letzteres sollte durch einige weitere Versuche ermittelt werden.

Wurde zunächst die *untere Hälfte* der bisher verwendeten Öffnung zugedeckt, so verringerte sich die Luftförderung erheblich, durchschnittlich auf weniger als $^1/_3$. Außerdem war der Ausstrom sehr stark verringert; in den meisten Versuchen war er überhaupt nicht nachweisbar. Anscheinend vermag nur der durch eine große Öffnung ermöglichte kräftige Luftstrom eine solche Luftverdünnung herbeizuführen, daß im anstoßenden Teil der Öffnung ein meßbarer Ausstrom auftritt. Wurde die untere Hälfte des Fensters geöffnet und die *obere verdeckt*, so war die Luft*verteilung* deutlich ungünstiger als bei der entgegengesetzten Anordnung. Auch noch in 50 cm Höhe über dem Fuß-

boden und in Köpfhöhe eines sitzenden Menschen war dann deutliche Zugluft bemerkbar. Einen unverkennbar günstigen Einfluß auf die Luftverteilung hatte die Anbringung einer schräg von unten nach oben einfallenden Platte an der oberen Öffnung; der Zustrom der Luft wurde dann, ähnlich wie es erfahrungsgemäß durch ein Kippfenster geschieht, meist nach oben gelenkt und das rasche Absinken auf den Fußboden verhindert. Mehrfach war bei dieser Anordnung im Bereich des ganzen Fußbodens eine Ablenkung der Kerzenflammen nicht wahrzunehmen. Ausnahmsweise wurde jedoch auch beobachtet, daß der sonst unmittelbar am Fenster niederfallende Luftstrom durch den Kippflügel nur etwas weiter ins Zimmer hineinverlegt und dann eher noch störender empfunden wurde. Anbringung seitlicher Backen an dem Kippfenster, auf die von manchen besonderer Wert gelegt wird, hatte keinen nennenswerten Einfluß.

Eine *weitere Verkleinerung* der Lüftungsöffnung auf 12×20 cm $= 240$ qcm brachte eine weitere *sehr* starke Verringerung der Luftzufuhr und außerdem auffallend gesteigerte Unregelmäßigkeiten mit sich. Nur in wenigen Versuchen stellte sich eine deutlich meßbarer Einstrom her. Meistens war auch bei westlichen Winden nur *etwas* Ausstrom und *kein* Einstrom festzustellen; oft liefen die Anemometer abwechselnd rück- und vorwärts oder rührten sich überhaupt nicht, so daß sich gar kein brauchbares Endergebnis zeigte. Ob die Öffnung mehr oben, in der Mitte oder unten angebracht war, machte wenig aus; im ganzen waren die Ausschläge oben am geringsten. Eine Einwirkung auf die auf dem Boden aufgestellten Kerzen trat nicht hervor. Regelmäßige und deutliche Bewegung der Anemometer zeigte sich nur dann, wenn in der dem Fenster gegenüberliegenden Tür eine *Gegen*öffnung (nur 10 cm Quadrat) angebracht war. In diesen Versuchen überwog meistens, auch bei westlichen Winden, die Stromrichtung von der Tür ins Zimmer nach der am Fenster liegenden Öffnung hin.

Es mußte danach zweifelhaft erscheinen, ob diese vom Wind abhängige Lüftung mittels kleiner Öffnungen überhaupt einen erheblicheren Teil des gesamten Luftwechsels des Raumes, einschließlich des natürlichen, durch zufällige Undichtigkeiten sich vollziehenden, ausmacht. Es wurden daher einige Versuche (in dem größeren Versuchszimmer) ausgeführt, in denen zunächst der Raum mit CO_2 gefüllt wurde; dann wurde der CO_2-Gehalt der Luft bestimmt und nach Ablauf einer Stunde ein zweites Mal; aus der Abnahme des CO_2-Gehalts war dann nach der *Seydel*schen Formel der *Gesamt*luftwechsel des Raumes zu berechnen. Gleichzeitig ergaben anemometrische Bestimmungen die Menge der durch die Lüftungsöffnung eingeströmten Luft Es wurde gefunden:



	Gesamtluftwechsel pro Stunde	Zustrom durch die Lüftungsöffnung
Vers. 1 (starker Südwestwind)	137 cbm	25 cbm
„ 2 (mäßiger Westwind)	23,5 „	19 „
„ 3 (wenig Wind)	16,8 „	3,3 „
„ 4 (Ostwind)	6,0 „	3,0 „

Nur dann, wenn zufällig der Wind gerade auf der Lüftungsöffnung steht, macht demnach die Luftzufuhr auf diesem Wege einen nennenswerten Bruchteil der gesamten Lüftung aus. In den meisten Fällen ist der Anteil des Luftwechsels, der sich durch zufällige kleinste Öffnungen und in senkrechter Richtung durch Fußboden und Decke vollzieht, erheblich größer als die Zufuhr durch die besondere Öffnung.

Der Grund, weshalb die kleineren Öffnungen so ungünstige Ergebnisse zeigen, liegt wohl hauptsächlich darin, daß die Winde, die selbst auf freiem Gelände in bezug auf Stärke und Richtung meist starke zeitliche Schwankungen zeigen, innerhalb der Straßen außerdem noch leicht abgelenkt und an der Lüftungsöffnung vorübergeführt werden, statt in der ursprünglichen Richtung gleichmäßig und kräftig in diese vorzudringen. Nur an ins Freie ragenden Wänden und nur bei geeigneter Windrichtung wird auf dauernden Einstrom zu rechnen sein. In städtischen Straßen — auch in Kleinhaussiedlungen — entstehen fortgesetzt Pressungen des Windes gegen die Dächer und Mauern der Häuser; der Wind wird an solchen Hindernissen zurückgestoßen, hauptsächlich aber abgelenkt; in letzterem Falle strömt er an dem Hindernis vorbei und entfaltet dabei an den vom Winde abgekehrten Wänden und ebenso an den in diesen gelegenen Öffnungen *saugende* Wirkung.

Außerdem ist die *Inklination* des Windes, d. h. der Winkel, in dem die Winde von der wagerechten Richtung abweichen und gegen die Erdoberfläche hin oder von dieser weg gerichtet sind, nicht zu vernachlässigen. Diese Inklination wird bisher wenig beachtet und nicht fortlaufend gemessen, obwohl von *Dechevrens* und später von *Emmerich* und *Lang*[1]) „Vertikalanemometer" konstruiert sind, welche die Häufigkeit und Stärke der Inklinationsströme messen. Bei städtischen Siedlungen ist diese senkrechte Strömung von besonderer Bedeutung. Hier wird der vom Dach abwärtsströmende Wind auf der Windschattenseite des Hauses und namentlich im oberen, dem Dachrand nahen Teil der Wand häufig eine starke Saugwirkung entfalten. Ferner hat *Weise*[2]) mit Recht darauf aufmerksam gemacht, daß der in einiger Höhe *über* den Geländehindernissen horizontal hinströmende Wind, der sog. „Deckelstrom", an seiner unteren Grenzen in dem darunter liegenden Gebiet Luftverdünnungen hervorruft, die in der verschie-

[1]) Arch. f. Hygiene **17**.

[2]) *Weise*, Die Kreisläufe der Luft, Berlin 1896.

densten Weise ihren Ausgleich finden. Durch diese Eigentümlichkeiten der Windströmungen in bebautem Gelände werden die wiederholt gemachten Beobachtungen verständlich, daß z. B. trotz deutlich westlicher Winde an der kleinen Öffnung der Westwand ausgesprochenes Ansaugen stattfand infolge des am Dach gestauten und von da nach abwärts über die Öffnung wegstreichenden Windes. Bei größeren und weiter nach abwärts reichenden Öffnungen werden derartige Windströmungen nur an einem Teil der Öffnung zur Wirkung kommen und die Gesamtlüftung nicht so ausschließlich beeinflussen.

Überblicken wir die Ergebnisse der Versuche mit Fensterlüftung, so läßt sich sagen, daß mit Öffnung eines ganzen Fensterflügels unter Umständen zweifellos die ausreichende Lüftung eines Raumes für einen gewissen Zeitabschnitt geleistet werden kann, daß aber der Anerkennung dieses Lüftungsmodus als einer regelmäßig befriedigenden Dauerlüftung starke Bedenken entgegenstehen.

Der in *erster* Linie maßgebende Einfluß der Wand*richtung* bringt es mit sich, daß ein Fenster, das nach Norden oder Osten orientiert ist, selbst bei einer großen Fensteröffnung höchstens in einem Drittel des Jahres reichliche Überdrucklüftung sichert. An den meisten Tagen des Jahres kommt es hier nur zu geringer Lüftung — abgesehen von der Mitwirkung von Temperaturunterschieden —, und häufig stellt sich vorwiegend Unterdruck her. Nur bei westlich gerichteten Fenstern kann man in den Sommer- und Herbstmonaten, wo die Temperaturverhältnisse ausgiebige Fensterlüftung gestatten, auf reichliche Zufuhr reiner Außenluft einigermaßen rechnen. Wir sind aber selten in der Lage, die Himmelsrichtung der Fensterwände beliebig zu wählen. Und selbst wenn dies der Fall ist, sind wir auch bei westlichen Fenstern oft genug Enttäuschungen ausgesetzt, weil in den einzelnen Jahren die jahreszeitlich vorherrschende Windrichtung sich in regelloser Weise verschiebt. Ein Diagramm, in welchem die Häufigkeit der Ost- und Nordwinde im einzelnen Monat in Prozenten der in dem Monat beobachteten Windrichtungen aufgetragen ist, zeigt, daß höchstens der Juli und August dauernd von vorherrschenden Ostwinden frei sind, während sowohl im Mai-Juni wie im September-Oktober und im März-April hohe Gipfel auftreten.

Dazu kommt, daß wir eine durch Öffnen eines ganzen Fensterflügels sich vollziehende kräftige Lüftung nur mit lästigen Zugerscheinungen in der Nähe des Fußbodens, selbst bei ziemlich hoher Außentemperatur, erkaufen können. Wir gelangen daher immer wieder zu dem Ergebnis, daß eine ausgiebige Fensterlüftung zwar für gelegentliche kurzdauernde Lüftung gut geeignet ist, aber nicht für eine *Dauerlüftung*, wie wir sie in dichtbewohnten Räumen und besonders in Schlafzimmern wünschen müssen.



Eine Verkleinerung der Öffnung steigert, wie wir gesehen haben, die Unsicherheit der Wirkung in hohem Grade. Praktisch könnte sie am ehesten in der Form eines verstellbaren oberen Kippfensters oder eines oberen Jalousiefensters in Betracht kommen. Beide führen in der Tat eine günstigere *Verteilung* des Luftstromes herbei, können daher längere Zeit hindurch geöffnet bleiben, ohne zu belästigen, und sind durch diesen Vorzug imstande, die infolge der Verringerung der Querschnitts weniger reichliche Luftzufuhr einigermaßen wieder auszugleichen.

Beide Vorrichtungen sind auch leicht zu bedienen und haben sich in Krankensälen, Schulen und anderen öffentlichen Gebäuden vielfach bewährt. Aber dort gibt es auch keine Vorhänge, welche die oberen Fensterscheiben bedecken, oder es sind nur seitlich bewegliche Vorhänge vorhanden, die leicht zurückgezogen werden können und dabei die oberen Fensterscheiben freilassen. In England sind letztere überaus praktische Vorrichtungen auch in fast allen Privathäusern eingeführt. Bei uns besteht aber noch die schlechte und vorläufig nicht ausrottbare Sitte, die oberen Fenster nach innen durch nicht zurückzuziehende Vorhänge oder wenigstens im obersten Teil durch Falbeln oder sog. Lambrequins zu verdecken. Dann lassen sich Kippfenster und Glasjalousien nicht verwenden; die über die schmale Öffnung herüberhängenden Stoffe machen die sowieso stark verringerte Luftförderung völlig unsicher.

Selbst da aber, wo Kipp- oder Jalousiefenster benutzt werden könnten, würde die stete Unsicherheit der Luftzufuhr, die gelegentlich immer auftretende Zugluft, die Notwendigkeit der häufigen Regelung dahin zusammenwirken, daß die Aufgabe, eine bequem zu handhabende und nicht lästige Dauerlüftung herzustellen, doch nicht als gelöst angesehen werden kann. Endlich sind auch die Kosten der Einrichtung und der oft erforderlichen Ausbesserungen an Kipp- und Jalousiefenstern für einen Kleinhausbau verhältnismäßig hoch.

Man könnte daran denken, an Stelle der Fensteröffnungen in den der Lüftung bedürftigen Räumen *besondere Querkänäle* von kleinem Querschnitt im oberen Teil einer Außenmauer anzulegen, wie dies in einigen Gegenden Deutschlands (z. B. Schleswig) für Lüftungszwecke wirklich angeführt ist. Auch die neuerdings vom Staatskommissar für das Wohnungswesen veröffentlichte „Sonderpolizeiverordnung für Kleinhäuser“ schreibt in § 15 vor, daß in Wohnungen, die nicht durch Öffnungen in gegenüberliegenden Wänden durchlüftbar sind, „Lüftungsrohre vorzusehen sind“; wobei es allerdings zweifelhaft bleibt, ob darunter Zufuhrrohre zu den Heizanlagen oder Entlüftungsrohre oder einfach nach außen führende Känale verstanden sind. Letztere haben vor den Öffnungen im Fenster jedenfalls den Vorteil, daß sie



leichter zu bedienen sind, ferner in zweckmäßiger Höhe, 10—20 cm unter der Decke, angelegt werden können und daß leichter eine nach Westen oder Süden orientierte Wand zur Wahl steht. Aber nach dem Ausfall meiner oben geschilderten Versuche läßt sich doch nicht annehmen, daß eine solche Anlage sich lohnt und den Lüftungsbedarf in befriedigender Weise deckt. Die Luftzufuhr ist viel zu sehr von Zufälligkeiten der Windrichtung abhängig und die durchschnittliche Leistung zu gering, als daß damit die hygienischen Forderungen wirklich als erfüllt angesehen werden könnten.

II. Ausnutzung vorhandener Temperaturunterschiede zur Lüftung.

Vorhandene Temperaturunterschiede werden zu Unterdrucklüftungen z. B. verwendet bei der Lüftung von Aborten durch Abluftrohre, die an das Küchenrauchrohr angelagert werden (*v. Pettenkofer*, *d'Arcet*); dies setzt bei den billigen Kleinhäusern allerdings die räumliche Nähe beider voraus. Für Küchen sind in den meisten Bauordnungen „Wrasenrohre" vorgeschrieben, Abluftkanäle für den Abzug der Wasserdämpfe, die neben den Rauchrohren der Kochherdfeuerung hochgeführt werden und z. B. nach der Berliner Bauordnung für jede Küche einen Querschnitt von 250 qcm haben sollen. Die Wrasenrohre sind mit Schiebern oder Klappen versehen, die nur während stärkerer Entwicklung von Wasserdampf und Küchengerüchen geöffnet werden. Diese nur auf die Zeit der Herdheizung und auf den Küchenraum beschränkte Sauglüftung berührt die hauptsächlich interessierende Lüftung der Wohn- und Schlafräume nur wenig.

Mit dem Heizkörper des Wohnraumes läßt sich aber sehr wohl eine Lüftungsanlage verbinden, die auf Überdruck beruht und dadurch den Vorzug hat, mit Sicherheit reine Luft von außen ins Zimmer einzuführen. Ein Rohr aus Eisenblech wird, ähnlich wie die Lüftungsrohre, die in den Mantelraum eines ummantelten Ofens führen, an dem Heizkörper — einerlei, ob ein eiserner Ofen, ein Küchenherd oder ein Kachelofen vorliegt — etwa 1—2 m in die Höhe geführt und so dicht angelagert, daß es die Ofenwärme annimmt. Das Rohr führt unter dem Fußboden wagrecht nach der Außenwand und endet in dieser mit einer Öffnung, die mit insektensicherem Drahtgitter und evtl. irgendwelchem Zierrat versehen wird. Ein Schieber oder eine Drosselklappe müssen eine gewisse Regelung der Luftzufuhr gestatten. Diese billige und im Kleinhaus tunlichst einfach mit Hilfe eines Blechrohres von der Stärke der gewöhnlichen Regenrohre und etwa doppeltem bis dreifachem Querschnitt auszuführende Überdrucklüftung, die von *Emmerich*, *Nussbaum* u. a. sehr empfohlen wird, kann in der Tat während der Heizperiode den Luftwechsel in einem Wohnraum sehr günstig beeinflussen. Vor allem ist es die einzige Art von einfacher und für ein



Kleinhaus in Erwägung zu ziehender Lüftung, die im Winter *vorgewärmte* Außenluft ins Zimmer liefert. — Die Höhe ihrer Leistung darf aber auch nicht überschätzt werden. Sie hängt von der Größe des Temperaturunterschiedes, von dem Höhenunterschied zwischen Ein- und Ausströmungsöffnung und von den Widerständen im Rohre ab; berechnet wird sie nach der bekannten *Wolpert*schen oder *Recknagel*schen Formel. Für das *Kleinhaus* fällt diese Rechnung nicht gerade günstig aus, weil die Höhe der Luftsäule immerhin gering ist, weil schon aus Sparsamkeitsrücksichten und zur Vermeidung von zeitweise zu starken Strömen Rohre von engem Querschnitt gewählt werden müssen und weil ein ausreichender Temperaturunterschied nicht *dauernd* vorhanden zu sein pflegt. Nur bei stärkerer Heizung an kalten Tagen kann auf einen Zustrom bis zu 50 cbm pro Stunde auf diesem Wege gerechnet werden; aber gerade unter solchen Verhältnissen ist auch die natürliche Lüftung am lebhaftesten und der Anlaß zur künstlichen Lüftung am wenigsten dringend; dagegen wird die Notwendigkeit, den Brennstoffverbrauch möglichst einzuschränken, meist zum baldigen Abstellen der Lüftung führen. Während der geringfügigen und kurzdauernden Heizung in den Übergangsjahreszeiten und während der ganzen warmen Jahreszeit schafft dagegen diese Lüftung im Kleinhaus nur wenige cbm pro Stunde oder scheidet so gut wie ganz aus. Ganz besonders gilt dies für Küchen mit Gasherden, wo die Heizung sich nur auf wenige Stunden zu beschränken pflegt. Sie kann ferner nicht mit Erfolg angewendet werden für die Schlafräume, die nur sehr wenig oder gar nicht geheizt werden.

Man darf nicht etwa glauben, daß durch ein solches Rohr auch bei ungeheizten Räumen unter dem Einfluß des Windes eine verläßliche Lüftung herzustellen ist. Abgesehen von den oben dargelegten Erfahrungen über die unzuverlässige Wirksamkeit dieses Motors an einer kleineren Öffnung einer Hauswand sind diese Rohre zu eng und bieten zu viel Widerstände, so daß nur dann ausnahmsweise eine Wirkung zustandekommen kann, wenn heftiger Wind direkt auf der Außenöffnung steht. Entschieden größer wird die Ausbeute, wenn *gleichzeitig* eine gewisse *Absaugung* der Luft stattfindet, z. B. durch besondere Kanäle, in denen die Wirkung des Windes in einer möglichst vollkommenen, unten noch näher zu besprechenden Weise ausgenutzt wird. Liegt in diesen Fällen in dem zum Ofen führenden Kanal eine Gegenöffnung vor, so kann auch ohne stärkeren Temperaturunterschied und trotz der Enge des Zufuhrrohres ein ausgiebiger Luftwechsel sich herstellen. Auch das Wrasenrohr könnte theoretisch in diesem Sinne wirken; aber hier kommt die Gegenöffnung im wesentlichen nur der Entfernung des Wrasens zu Hilfe und weniger der sonstigen Zimmerlüftung, schon weil für letztere die Lage der Abstromöffnung oberhalb des bewohnten unteren Drittels des Zimmers zu ungünstig ist.

Ferner ist auch dann mit einer verstärkten Luftzufuhr zu rechnen, wenn eine *Wohnküche* vorhanden ist, d. h. wenn die Küche zugleich den eigentlichen Wohnraum der Familie earstellt, und das ist in Kleinhäusern außerordentlich häufig der Fall. Dann ist ein ausreichender Temperaturunterschied viel länger und gleichmäßiger vorhanden, er reicht auch sogar bis in die Übergangsjahreszeiten hinein; ja selbst im Sommer kann er hier stundenweise wirksam sein und jedenfalls die Wrasenbeseitigung kräftig unterstützen.

Es fragt sich nur, ob die zweifellos willkommene, aber meist geringfügige Überdrucklüftung und die ebenfalls willkommene Verstärkung der Wrasenrohrlüftung bzw. jeder anderen Absauglüftung die Kosten der Anlage aufwiegt. Diese sind aber für die geringen Abmessungen des Rohrs, die für ein Kleinhaus in Betracht kommen, außerordentlich niedrig. Sie dürften einschließlich eines im Abschnitt III näher zu beschreibenden, über Dach geführten Rohres 1% der Bausumme nicht überschreiten, ohne dieses Rohr würden sie etwa $^1/_3$% derselben ausmachen.

Vom hygienischen Standpunkt aus lohnt sich die Anlage zweifellos. In der kalten Jahreszeit können wir auf keine andere Weise für den Wohnraum eine Zufuhr von vorgewärmter Frischluft und damit die Möglichkeit einer Dauerlüftung ohne Störung der Bewohnbarkeit herstellen. Die Beseitigung der beim Kochen entstehenden Gerüche und Wasserdämpfe durch Zuglüftung gelingt ebenfalls leichter und für den Bewohner schonender unter Beihilfe eines solchen Lüftungsrohres, als wenn zu diesem Zweck ein Fenster geöffnet werden muß.

Freilich ist auch damit der Lüftungsbedarf des Kleinhauses nicht vollständig gedeckt. Ein Luftwechsel in den meist im Obergeschoß gelegenen Schlafräumen kann nicht geleistet werden; ferner fehlt den Wohnräumen eine genügende Dauerlüftung während der wärmeren und der Übergangsjahreszeit. Diese Mängel machen noch eine Ergänzung dieser Überdrucklüftung nötig, die am besten durch die im folgenden Abschnitt beschriebene Einrichtung gewährt werden kann.

III. Ausnutzung des über Dach streichenden Windes für Sauglüftungsanlagen.

Die Reihe der bewegenden Kräfte, die ohne besondere Betriebskosten für die Lüftung zur Verfügung stehen, ist mit dem Wind und den gegebenen Temperaturunterschieden erschöpft. Nur eine Möglichkeit gibt es noch, kostenlos mehr Betriebskraft zu gewinnen, nämlich eine bessere *Ausnutzung* des Windes. Solange wir diesen nur in der Form des Windanfalls auf eine Hauswand zu verwerten suchen, sind wir von der Windrichtung sehr abhängig, durch die zahllosen Hemm-



nisse im Bereich der Häuser wird die Energie der Windbewegung beeinträchtigt und die Stromrichtung wird abgelenkt, so daß wir auf eine einigermaßen zuverlässige Wirkung nicht rechnen können. Ganz anders verhält sich aber der über die Dächer hinstreichende Wind, der *Weise*sche „Deckelstrom". Er erfährt in Siedlungen mit ungefähr gleich hohen Häusern keine stärkere Hemmung und wird nicht abgelenkt, seine Energie ist wesentlich größer als in den tieferen Schichten, und an den Öffnungen senkrechter Rohre wirkt er unabhängig von der Wind*richtung*. Dieser Überdachwind sichert bekanntlich die Zugkraft unserer Schornsteine. Vielfach bestehen auch Entlüftungsrohre über Dach, an deren oberer Öffnung der Wind stetig eine kräftige saugende Wirkung entfaltet, sobald die Öffnung nur gegen senkrecht geneigte Windströme einigermaßen geschützt ist. Selbstverständlich ist mittels dieses Motors niemals eine *gleichmäßige* Geschwindigkeit der Luftbewegung in den absaugenden Rohren zu erzielen. Der Wind selbst wechselt vielmehr in seiner Stärke in außerordentlich hohem Grade; auch bei scheinbar gleicher Windstärke zeigt ein selbsttätig schreibendes Anemometer ganz gewaltige Schwankungen, ein Absinken bis fast zur Nullinie und hohe Erhebungen in fortgesetztem Wechsel. Es wird daher selbstverständlich eine anhaltend gleichmäßige Luftbewegung nirgends erwartet werden dürfen, wo der Wind als Triebkraft wirkt. Aber das ist auch für eine Lüftung von Wohnräumen durchaus nicht erforderlich; im Gegenteil wird bei einem steten Wechsel der Geschwindigkeit das Gefühl von „Zugluft" viel sicherer vermieden.

Den kräftigen, ungehemmten, durch die Windrichtung nicht beeinflußten Überdachwind können wir nun auch für Häuser und insbesondere für Kleinhäuser ausnutzen durch einfache Kanäle, die in einer Innenwand des Hauses verlaufen, nahe am Fußboden des Zimmers ihre Einstromöffnung haben und über Dach mit einer gegen abwärts gerichtete Winde schützenden Bekrönung enden. — Diese Einrichtung hat sich bereits in der Praxis in unzähligen Fällen bewährt, namentlich in zahlreichen öffentlichen Gebäuden. Sie ist z. B. in sämtlichen preußischen höheren Lehranstalten bestimmungsgemäß eingeführt, und hat hier bei richtiger Handhabung und bei nicht übertriebenen Anforderungen durchaus Befriedigendes geleistet.

Nur ein Einwand könnte vom hygienischen Standpunkt gegen diese Art Leistung erhoben werden: es handelt sich immerhin um eine *Unterdruck*lüftung, und diese sieht man im Vergleich zur Pulsionslüftung deshalb als minderwertig an, weil dabei gewöhnlich nicht eine besondere einwandfreie Entnahmestelle für die nachströmende Luft ausgewählt wird, sondern deren Eintritt durch die zufälligen kleinen Öffnungen, namentlich die Ritzen unter den Türen erfolgt, so daß gelegentlich auch Küchen-, Abort- oder Korridorluft an Stelle von



reiner Außenluft nachrückt. Diese Gefahr ist aber nur in größeren Miethäusern von Belang. Im Kleinhaus gibt es keine größere Anzahl zusammenhängender Räume, die in belästigende Verbindung treten könnten; jeder Raum ist dem Treppenhaus und dieses dem Freien so nahe, daß von hier aus der Ausgleich jedes durch Absaugung entstandenen Unterdrucks am leichtesten erfolgen wird. Die einzigen Räume des Kleinhauses, von dem aus ein Zuströmen von Luft unerwünschter Beschaffenheit gelegentlich eintreten könnte, sind die Küche und der Abort; in dieser Beziehung gewährt aber das vorschriftsmäßige Wrasenrohr bzw. das besondere Abluftrohr des Aborts einen guten Schutz. Schließlich läßt sich jeder Zuzug unreiner Luft durch zufällige kleine Öffnungen mit Sicherheit dadurch ausschalten, daß einer bestimmten größeren Öffnung die Zufuhr der Frischluft übertragen wird, z. B. dadurch, daß das oben beschriebene, für eine Überdrucklüftung bestimmte Rohr zur Verfügung steht oder daß eine kleine Fensterscheibe geöffnet wird. Alle widerstandsreicheren engeren Zufuhrwege sind damit völlig außer Tätigkeit gesetzt, und es gelingt so in einfacher Weise, jeder gelegentlich drohenden Zufuhr einer nicht einwandfreien Luft vorzubeugen.

Es fragt sich nur, ob sich diese hygienisch entschieden empfehlenswerte Einrichtung *im Kleinhaus* auch *billig genug* herstellen läßt und ob sie einen der Menge nach ausreichenden Luftwechsel sichert?

Das Aussparen eines Luftkanals von 250 qcm Querschnitt in einer Innenwand verursacht nur geringe Kosten. Für die Heraufführung des Kanals etwa 1 m über Dach würde man zweckmäßig Soltaurohre verwenden und diese oben mit einer Bekrönung aus verzinktem Eisenblech versehen.

Inwieweit letztere von Bedeutung und welcher Art von Bekrönung der Vorzug zu geben ist, darüber geben neuere Versuche von *Rietschel*[1]) Aufschluß. Danach zeigen unbekrönte Rohre bei horizontal oder von unten nach oben streichendem Wind ebenso gute Wirkung wie bekrönte. Auch bei Oberwind, solange die Neigung gegen die Horizontale gering ist, läßt sich kaum ein Unterschied feststellen. Insofern ist daher nur Schutz gegen Regeneinfall nötig. Nun kommt es aber, wenn auch selten, vor, daß stärker geneigter Oberwind weht; überschreitet der Neigungswinkel 22°, so bilden sich an der vom einströmenden Wind getroffenen Innenseite des Rohrs Windwirbel, die in das Rohr hineinschlagen. Gegen die störende Wirkung dieser Art Winde ist daher ebenfalls ein Schutz erforderlich; und womöglich soll auch in derartigen Fällen noch ein Teil der Kraft des Windes für die Saugwirkung nutzbar gemacht werden. Dies läßt sich erreichen durch Anbringung einer einfachen,

[1]) Gesundheits-Ingenieur, 1906, Nr. 29.



40—50 cm über der Öffnung befindlichen und letztere an Querschnitt 20—40 cm überragenden Platte aus starkem Eisenblech, ähnlich wie bei den *Wolpert*-Saugern, nur daß diese noch einen nicht unbedingt nötigen Rohrstutzen tragen, der den Zwischenraum zwischen Platte und Rohröffnung ausfüllt. Noch bessere Abhaltung des Oberwindes und zugleich besseres Abfließen des Regenwassers leisten *dachförmig* vom First aus um 15° gegen die Wagerechte geneigte Bleche, von denen mehrere übereinander angebracht werden können. Deflektoren von dieser Form werden seit vielen Jahren in Berlin von der Stadtbaudeputation vorgeschrieben[1]). Alle komplizierteren Sauger, z. B. die sog. Kreuzsauger oder drehbare, immer mit Geräusch und viel Reparaturen verbundene Aufsätze kommen für die einfachen Verhältnisse eines Kleinhauses nicht in Frage.

Ob auch die Größe der Leistung solcher über Dach geführter Lüftungskanäle befriedigend ist, darüber habe ich mich durch Untersuchung einiger fertiger Anlagen unterrichten müssen, da Berechnungen für die Wirkung des Windes an den Dachöffnungen kaum möglich sind und Ergebnisse von Messungen bisher nur sehr spärlich vorliegen, ganz abgesehen davon, daß diese immer nur für die besonderen örtlichen Verhältnisse Geltung haben können.

Zunächst liegt der Gedanke nahe, im Sommer und in den Übergangsjahreszeiten einfach durch Öffnen der Ofentüren eine Wirkung des Überdachwindes herbeizuführen. Man kann sich ja leicht überzeugen, daß auf diese Weise wirklich eine gewisse Absaugung zustande kommt; Zigarrenrauch wird eingesogen, ein ausgebreitetes Taschentuch bauscht sich in die Öffnung hinein, so daß man geneigt sein könnte, eine erhebliche Wirkung anzunehmen. Aber tatsächlich ist diese Leistung in ihren Ergebnissen viel zu geringfügig. Die engen gewundenen Züge des Ofens und die Knickungen am Fuchs vermitteln die Verbindung mit der Außenluft unter so viel Widerständen, daß eine Luftbewegung lediglich infolge des überstreichenden Windes nur in sehr geringem Grade zustande kommt. Erst wenn die starke Erwärmung durch die Heizung hinzukommt, stellt sich ein ausgiebiger Luftstrom her. In der Öffnung des ungeheizten Ofens versagt daher das gewöhnliche, von 20—25 cm pro Sekunde Geschwindigkeit an reagierende Anemometer gänzlich; es steht dauernd oder lange Zeit hindurch ganz still und gibt im besten Falle vorübergehend ganz geringe Ausschläge. Ich habe daher für diese Zwecke das bereits oben erwähnte, von *Fuess* konstruierte empfindlichere Anemometer benutzt. Bei diesem wird die Trägheit des Flügelrades dadurch überwunden, daß im unteren Teil des Instrumentes ein kleiner Federkraftventilator angebracht ist, der seinen Luftstrom gegen das Flügelrad richtet und dieses mit einer

[1]) *Haase*, Die Lüftungsanlagen, Stuttgart 1893.



bestimmten, bekannten Geschwindigkeit in Gang setzt; läßt man nun einen anderen, unbekannten Luftstrom in entgegengesetzter Richtung auf das Flügelrad einwirken, so ergibt sich eine gewisse Hemmung des durch den Ventilator hervorgerufenen Stromes, und aus dem Grad dieser Hemmung kann die Geschwindigkeit jenes zweiten Luftstromes entnommen werden.

Auch mit diesem Meßgerät erhielt ich indes an ungeheizten Öfen der verschiedensten Stockwerke sehr geringe Ausschläge. An windigen Tagen, bei einer Innentemperatur von 13° und einer Außertemperatur von 8—9° erhielt ich z. B. als Höchstleistung 5 cbm Luftförderung pro Stunde. Besser wurden die Ergebnisse nur, wenn gleichzeitig ein Fenster geöffnet wurde und das Rauchrohr somit die Gegenöffnung für eine Überdrucklüftung lieferte. Das ist aber eine Anordnung, die praktisch bedeutungslos ist, da bei etwas größerer Öffnung der Überdruck allein genug leistet und da bei längerer Dauer des Zusammenwirkens beider Öffnungen belästigender Zug schwer zu vermeiden ist.

Weit bessere Ausschläge gaben mir die Messungen an Lüftungskanälen, die mit größerem Querschnitt in Innenwandungen angelegt waren und in gerader Richtung über Dach führten. Solche Kanäle sind z. B. in den Erweiterungsbauten der Berliner Universität angebracht. Hier habe ich an Tagen, wo dieser Temperaturunterschied zwischen innen und außen sehr gering war, bei verschiedener Windrichtung und Windstärke Messungen teils mit dem empfindlichen, teils mit mehreren weniger empfindlichen Anemometern ausgeführt; absichtlich nur in Räumen des obersten Stockwerkes, damit die Länge des Kanals nicht allzusehr von der eines im Kleinhaus möglichen abstach. Dabei bekam ich für den Luftwechsel einen 5—10 mal höheren Betrag als an den geöffneten Öfen und ebenso weit höhere Werte als an den entsprechend großen Öffnungen der senkrechten Hauswände, namentlich wenn die Windrichtung nicht gerade auf die Öffnung gerichtet war. An einem Tage mit Windstärke 3 erhielt ich z. B. bei einem Querschnitt der Ausströmungsöffnung von 20:60 cm Zahlen, die zwischen 170 und 270 cbm Luftförderung pro Stunde schwankten. An windstillen Tagen ist die Leistung natürlich entsprechend geringer, und es gibt Zeiten, wo kaum eine solche angezeigt wird. Aber diese Zeiten halten nie an, und zwischendurch kommt es stoßweise oder für längere Zeit zu immerhin befriedigenden Ausschlägen, hauptsächlich deshalb, weil selbst bei scheinbarer Windstille über Dach doch immer noch eine Luftbewegung von mindestens $^1/_2$ bis 1 m pro Sekunde gemessen wird.

An der leichten Ausführbarkeit und ebenso an der Leistungsfähigkeit derartiger Absaugekanäle ist demnach wohl nicht zu zweifeln. Es fragt sich nur, für *welche Räume* des Kleinhauses diese Anlagen vor-



zusehen sind? Soll jeder Raum seinen besonderen Absaugekanal erhalten, so kommen schließlich doch erhebliche Kosten zusammen; und bei größeren Häusern würden dann die Dächer ähnlich mit Abzugsrohren gespickt werden, wie wir es an englischen Häusern sehen, in denen jeder bewohnte Raum einen Kamin und jeder Kamin sein besonderes über Dach gehendes Abzugrohr hat.

Unter den Räumen eines Kleinhauses ist vor allem an die Schlafstuben zu denken, in denen über Nacht keine zeitweise Fensterlüftung erfolgen kann und wo auch eine auf vorhandene Temperaturunterschiede gegründete Überdrucklüftung nicht in Betracht kommen kann. Meistens sind im Kleinhaus zwei Schlafzimmer vorhanden; diese liegen aber häufig nebeneinander, so daß ein gemeinsamer Abzugskanal in der Zwischenwand die Lüftung beider sehr geringe Abmessungen aufweisender Räume übernehmen kann. Gerade eine solche bequeme und in keiner Weise störende Durchlüftung der Schlafzimmer würde in gesundheitlicher Beziehung entschieden von Wert sein.

Das *Wohn*zimmer wird nur dann für eine Unterdrucklüftung in Frage kommen, wenn es nicht zugleich als Küche dient und wenn auch keine einigermaßen dauernde Heizung vorliegt. Ist dies der Fall, dann wird die oben geschilderte Überdrucksanlage der in erster Linie zu wählende Ausweg sein, weil sie im Winter vorgewärmte Luft liefert. Daneben wird allerdings eine Sauglüftung zu erwägen sein, um erforderlichenfalls die zu schwache Überdrucklüftung zu verstärken, insbesondere beim Geringerwerden der Temperaturunterschiede. Im Notfall wird in der heizfreien Jahreszeit auch mit zeitweiser Fensterlüftung auszukommen sein.

Schließlich fragt sich noch, ob für den *Abort* eine besondere Lüftung vorzusehen ist. In dieser Beziehung könnte man von vornherein zu einem Verzicht geneigt sein, da selbst in den größten und elegantesten Mietshäusern die Aborte nur mit Fensterlüftung versehen zu sein pflegen. Alsdann findet freilich meistens, wie durch die Ergebnisse meiner anemometrischen Messungen bestätigt wird, ein Überschuß von Lufteintritt statt, der sich in das Haus hinein ausgleicht und die übeln Gerüche in Vorplatz, Treppenhaus usw. weiterführt. Aber in städtischen Mietshäusern ist diese Belästigung dadurch einigermaßen erträglich, daß gewöhnlich Spülklosetts vorliegen, die nur für sehr kurze Zeit Geruch liefern. Dagegen wird man da, wo Gruben- oder Tonnensystem besteht, auf fortgesetzte Geruchsentwicklung gefaßt sein müssen; in solchen Häusern leben die Bewohner in der Tat oft Tag und Nacht in einer mit Abortgeruch durchsetzten Luft, namentlich wenn der Wind auf dem geöffneten Abortfenster steht.

Da wir im Kleinhaus häufig damit zu rechnen haben, daß nicht Spülklosetts, sondern an Gruben oder Tonnen angeschlossene Aborte



vorhanden sind, würde hier die übliche Fensterlüftung des Aborts ebenfalls zu Mißständen führen, zumal die enge Lage der Räume aneinander die Belästigung besonders stark hervortreten lassen muß. Ein Abzugsrohr, das die Gerüche über Dach fortschafft, erscheint hier daher durchaus angebracht. Entweder kann dies, wenn der Küchenschornstein günstig liegt, durch ein einfaches, diesem angelagertes Rohr geschehen, das dann nicht nur auf die Saugwirkung des Windes angewiesen ist, sondern bei welchem noch die Temperaturunterschiede kräftig mitwirken; oder, wenn dieser Anordnung Schwierigkeiten entgegenstehen, wird man sich mit der Windwirkung an einem einfachen Überdachrohr begnügen müssen.

Eine *Zusammenfassung* der Ergebnisse meiner Untersuchungen führt zu folgenden Leitsätzen:

1. Um den Bewohnern eines Kleinhauses eine von übermäßigen Wasserdampfmengen und von übeln Gerüchen freie Luft zu sichern, reicht die natürliche, durch zufällige Undichtigkeiten des Baus sich vollziehende Lüftung nicht aus.

2. Da die künstliche Lüftung des Kleinhauses weder für Anlage noch für Betrieb größere Unkosten verursachen darf, ist nur mit dem Wind und mit vorhandenen Temperaturunterschieden als bewegenden Kräften zu rechnen.

3. Fensterlüftung in der Form der Zuglüftung macht das Zimmer unbewohnbar und ist daher nur ausnahmsweise für kurze Zeit anwendbar.

4. Bei der Lüftung durch einseitige Öffnung ganzer Fensterflügel überwiegt nach den von mir angestellten Untersuchungen die durch das Fenster einströmende Luft erheblich den im oberen Abschnitt des Fensters sich einstellenden Ausstrom. Die Größe des durch das geöffnete Fenster erfolgenden Luftwechsels ist in erster Linie abhängig von der Wind*richtung*; bei abgekehrtem Wind kann Stillstand oder Überwiegen des Ausstroms beobachtet werden. In zweiter Linie ist die Wind*stärke* von Einfluß; Temperaturunterschiede machen wenig aus. Die hauptsächlich im unteren Teil des Fensters eintretende Luft ruft häufig in der Nähe des Fußbodens Zugerscheinungen hervor. Diese Art von Lüftung ist daher zur zeitweisen Lüftung der Wohnräume gut geeignet und von großem Wert; aber nicht geeignet als Dauerlüftung in der kälteren Jahreszeit, als Dauerlüftung in den Schlafräumen und zur Lüftung in Räumen mit starker Geruchsentwicklung.

5. Lüftung durch kleinere Fensterabschnitte oder Wandöffnungen fördert nur geringe Luftmengen und nur bei günstiger Windrichtung. Falls reichlicher Einstrom vorhanden ist, stellt sich wiederum ungünstige Verteilung und Zugluft in der Nähe des Fußbodens her. Da



eine Anlage der Fenster entsprechend der herrschenden Windrichtung nicht möglich zu sein pflegt und Vorrichtungen für eine bessere Verteilung der Frischluft in Kleinhauswohnungen sich schwer anbringen lassen, so entspricht auch diese Art Lüftung nicht den Anforderungen an eine Dauerlüftung für alle Jahreszeiten.

6. Der vorhandene Temperaturunterschied, der während der Heizperiode zwischen Außen- und Innenluft besteht, läßt sich für eine Zufuhr von vorgewärmter Frischluft ausnützen, wenn ein einfaches Blechrohr von außen an den Heizkörper herangeführt wird. Für eine Dauerlüftung der Wohnräume im Winter erscheint diese Vorrichtung als die am meisten empfehlenswerte.

7. Für Lüftung der Schlafräume und als Dauerlüftung für die Wohnräume in der wärmeren Jahreszeit ist Absaugung durch über Dach gehende und dort mit einer einfachen Bekrönung versehene Rohre wünschenswert. Auch für den Abort ist Unterdrucklüftung vorzusehen.

8. Durch die geschilderten, nur einen sehr geringen Bruchteil der Bausumme ausmachenden Lüftungseinrichtungen gelingt es, allen Räumen eines Kleinhauses zu jeder Jahreszeit eine einwandfreie Luftbeschaffenheit zu sichern.

Zum Schluß noch einige Worte über die Frage, ob denn für Kleinhäuser Lüftungseinrichtungen überhaupt als unbedingt nötig angesehen werden müssen? Mancher Baumeister wird aus seiner praktischen Erfahrung heraus diese Frage verneinen und es bestreiten, daß in allen Kleinhäusern dauernd für gute Luftbeschaffenheit gesorgt werden muß. Aber wenn auch die bisherigen Erfahrungen überwiegend für eine Entscheidung in diesem Sinne sprechen, so ist doch zweifellos schon jetzt mit der *Möglichkeit* zu rechnen, daß für manche Kleinhäuser mit empfindlicheren und hygienisch geschulten Bewohnern eine strengere Durchführung hygienischer Grundsätze verlangt wird; und ebenso mit der *Wahrscheinlichkeit*, daß in naher Zukunft selbst in weiten Kreisen der Bevölkerung eine Hebung der Lebenshaltung und damit auch eine größere Empfindlichkeit gegen Luftverunreinigung zustandekommen wird.

Diese Ausblicke lassen es angezeigt erscheinen, bereits heute zu erwägen, *in welcher Art* erforderlichenfalls der Lüftungsbedarf in Kleinhäusern einfach, billig und doch befriedigend gedeckt werden kann. Bisher sind in dieser Richtung begründete Vorschläge kaum gemacht worden, und ich habe es deshalb für zeitgemäß gehalten, die möglichen Lösungen dieser Aufgaben an der Hand von theoretischen Erwägungen und auf Grund von Versuchen kritisch zu prüfen. Ich hätte mich dabei auf einer gesicherteren Grundlage bewegt, wenn ich die verschiedenen

Arten der Lüftung wenigstens an einigen bereits ausgeführten Kleinhäusern hätte untersuchen und damit der praktischen Erfahrung das ihr zukommende endgültige Urteil hätte überlassen können. Aber es fehlt fast in allen mir bekannt gewordenen zahlreichen Kleinhaussiedlungen bis jetzt an jedem Versuch, die Lüftungsfrage überhaupt zu berücksichtigen, und wo ausnahmsweise besondere Lüftungseinrichtungen in fertigen Kleinhäusern beschrieben sind, da fehlt es stets an einer nachträglichen Prüfung der im Gebrauch befindlichen Anlage, durch die erst ein Werturteil ermöglicht wird. Ich war daher wesentlich auf die Begründung meiner Vorschläge durch Versuche angewiesen. Diese Erörterung führt erfreulicherweise zu dem Ergebnis, daß es durchaus nicht schwierig ist, die Aufgabe einer einwandfreien Belüftung des Kleinhauses ohne Aufwendung irgend erheblicher Kosten zu lösen. Ist dies aber der Fall, dann dürfte es doch wohl angezeigt sein, demnächst in die Entwürfe diese Einrichtungen mit aufzunehmen, die so einfach sind, daß ihre sachgemäße Bedienung nur an bösem Willen, nicht aber an dem Mangel an Verständnis und auch kaum an der Trägheit der Bewohner scheitern kann.

Mit der Überzeugung, daß auch im Kleinhaus etwas geschehen *muß*, um die Luftbeschaffenheit der bewohnten Räume einwandfrei zu erhalten, stehe ich keineswegs allein. Um nur einen erfahrenen und sicher urteilsfähigen Praktiker anzuführen, äußert sich z. B. *Muthesius* in seinem Buche: „Kleinhaus und Kleinsiedlung" folgendermaßen:

„Der oft gehörte Einwand, daß gerade die kleinen Leute, wie ja die Landbewohner überhaupt, dem Lüften des Zimmers feindlich gegenüberständen, kann nicht dahin führen, derartige Lüftungseinrichtungen überhaupt wegzulassen. Man soll wenigstens die Möglichkeit für solche geben, die lüften *wollen*. Im übrigen haben in der letzten Zeit gesundheitliche Bedürfnisse auch in den breiteren Bevölkerungsschichten rasche Fortschritte gemacht und man kann damit rechnen, daß in absehbarer Zeit derartige Einrichtungen gern gebraucht und von den Bewohnern dann unmittelbar *gefordert* werden."

Dieser Auffassung möchte ich durchaus beitreten, und von ihr geleitet, habe ich die vorstehenden Untersuchungen ausgeführt.

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.)

Morphologische Studien an Influenzabacillen und das ätiologische Grippeproblem[1]).

Von
Walter Levinthal und **Hans Fernbach,**
Assistenten am Institut.

Mit 6 Textabbildungen.

Wenn unter den aktuellen Fragen der zeitgenössischen Medizin das *Influenzaproblem*, vielseitig bearbeitet und jahrelang diskutiert, noch immer seinen Platz im Vordergrunde des allgemeinen Interesses behauptet, so wirken dafür offenbar zwei Gründe: einmal ist die Grippe in ihrer pandemischen Form die einzige, sagen wir kühn, die letzte akute Seuche von weltumspannenden Ausmaßen in neuer Zeit, moderner Erbe mittelalterlicher Völkerplagen, gleich jenen, gleich der Pest oder Lepra, die Länder der Erde verwüstend und mehr Opfer fordernd als Weltkrieg und Hungerkatastrophen; so erfüllt sie stets von neuem die Ärztewelt mit Sorge und weckt in Wissenschaft und Praxis die Initiative aller Berufenen zum Abwehrkampfe, eine Aufgabe, zu der unter vielen anderen *Simon Flexner*[2]) auf dem 10. Ärztekongreß in New York mit eindringlichem Ernste aufrief und *F. Neufeld*[3]) zu wiederholten Malen das Wort ergriff. Zweitens aber birgt die Influenza in ihren epidemiologischen Ablaufgesetzen, in Ätiologie und Kasuistik so viel des Rätselhaften, Umstrittenen, Problematischen, das den Reiz, den sie allenthalben auf die Wissenschaft ausübt, leicht begreiflich macht.

Es wird notwendig sein, zuerst einmal die Grundlagen der heutigen Grippeforschung, das, was als gesicherter Boden gelten darf, fest-

---

[1]) Aus dieser Arbeit wurden Teile auf der 9. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie in *Würzburg* durch den einen von uns (*L.*) am 9. VI. 1922 vorgetragen. Das Manuskript ist am 1. VI. 1922 abgeschlossen worden; bis auf geringe stilistische Korrekturen wurden Änderungen nicht mehr vorgenommen.

[2]) *Simon Flexner* (New York). Epidemiology and recent epidemics. Journ. of the Americ. med. assoc. **73**, 949. 1919.

[3]) a) *F. Neufeld* und *P. Papamarku* (Berlin), Zur Ätiologie und Epidemiologie der Grippe. Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 1. — b) *Neufeld*, Zur Frage des Influenzaerregers. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 35. — c) *Neufeld*, Zum jetzigen Stand der Influenzafrage. Med. Klinik 1921, Nr. 19.



zustellen, um von hier aus zu präziser Fragestellung zu gelangen, sich Schritt für Schritt weiter vorzutasten.

So seien an die Spitze dieser Mitteilung und Betrachtung zwei Thesen gestellt, von denen wir bei unseren Studien ausgegangen sind. Wie in einem ausführlichen kritischen *Referat*[1]) gezeigt werden konnte, ist die Influenza eine in allen Erdteilen mit gemäßigtem Klima *endemische* Infektionskrankheit von periodischem Charakter, die nur in Abständen von einigen Jahrzehnten weite epidemische oder gar pandemische Ausbreitung gewinnt. Und weiter sehen wir den greifbarsten Ertrag der ganzen internationalen Untersuchung seit 1918 in der Erkenntnis des regelmäßigen Vorkommens der *Pfeiffer*schen Bacillen bei der Grippe. Auch hierüber gibt die ebenzitierte Abhandlung die ganze Fülle des von Forschern aller Sprachen zusammengetragenen Materials. Ob diese Erkenntnis für die Frage der Ätiologie und Epidemiologie der Seuche ausreicht, oder ob für das Verständnis noch weitere Momente herangezogen werden müssen, bleibe vorerst dahingestellt.

Zunächst sei uns gestattet, über das in dem erwähnten Referat gesammelte und kritisch gesichtete Material hinaus zuerst eigene Ergebnisse diagnostischer Untersuchungen aus den Jahren 1918—1922 zusammengefaßt zu berichten und in diesem Zusammenhange über die Methodik des Nachweises, Nährböden und Technik einiges zu sagen.

I. Eigene Befunde von Influenzabacillen bei Grippefällen in den Jahren 1918 bis 1922.

Die allmähliche Zunahme von Influenzafällen in den verschiedensten Teilen des deutschen und österreichischen Heeresgebietes in den letzten Jahren vor 1918, wie sie von vielen Seiten[2]) geschildert worden ist, führte im flandrischen Etappengebiet der 4. Armee bereits im Frühling 1916 und dann wieder im folgenden Herbst und Winter zu typischen Endemien. An dem Material dieser zahlreichen Fälle konnte der eine von uns (*L.*) als Assistent des Armeehygienikers *Riemer*, beraten und gefördert durch seinen Chef, unterstützt von den Klinikern, Erfahrung und Technik der bakteriologischen Influenzadiagnose schulen. Nachdem aus diesen Studien schließlich noch die Darstellung eines optimalen Influenzanährbodens, des *Kochblutagars*, hervorgegangen, fanden bereits die allerersten Krankheitsfälle der großen

[1]) *Walter Levinthal* (Berlin), Epidemiologie und Bakteriologie der Influenzapandemie von 1918. Lubarsch-Ostertag 1921, Jahrg. 19, Abt. 2, S. 848. — Dasselbe: *W. Levinthal*, *M. H. Kuczynski* und *E. Wolff*, Die Grippepandemie von 1918, als Buch bei Bergmann, München 1921.

[2]) Auf die Angabe der Literatur bis 1920 wird in dieser Mitteilung im allgemeinen verzichtet, vielmehr erneut auf das erwähnte Referat von *Levinthal* verwiesen, das die gesamte Grippepublikation beibringt und bespricht.



Pandemie Ende April 1918 in unserem Laboratorium im Hygienischen Institut der Universität Gent mit der Untersuchung von Grippesputen wohlvertraute Untersucher. So konnte bereits am ersten Tage, als die explosionsartig in einem Rekrutendepot ausbrechende Epidemie neben dem Hygieniker auch den beratenden inneren Mediziner *Stintzing*-Jena alarmierte, der kulturelle Nachweis der Grippestäbchen in 4 von 6 Sputen geführt werden. Immer wieder sei betont: Also von allem Anfang der Seuche an waren die Bacillen in unserem Untersuchungsgebiet nachweisbar, nur selten spärlich, meist in zahlreichen Kolonien, oft fast in Reinkulturen bei zweckmäßiger Technik, auf die noch kurz zurückzukommen sein wird. Der Verlauf dieser ganzen Seuchenwelle brachte uns dann vom 1. Mai bis 31. August 1918 zur Diagnose 348 Sputa, auf die damals noch die bakteriologische Untersuchung beschränkt blieb. Die Ausbeute an positiven Befunden in diesem Material für die ganze Zeit und die einzelnen Monate gibt die *Tabelle I* wieder. Wie es die Aufgaben einer zentralen Untersuchungsstelle mit sich brachten, handelte es sich hier nicht um wissenschaftlich gesichtetes Material, sondern um die ganze bunte Menge aller verdächtigen und differenzialdiagnostisch in Betracht kommenden Fälle, unter denen sich weiterhin oft genug Tuberkulosen, Paratyphen und anderes entpuppten.

Tabelle I.

Kultureller Nachweis von Influenzabacillen im Sputum, Sommer 1918 in Gent (Belgien).

1918	Gesamtzahl der unter-sucht. Sputen	Davon I.-B. positiv	In Prozenten
Mai	58	20	34,5
Juni	81	20	24,7
Juli	121	42	34,7
August	88	39	44,3
1. Mai bis 31. Aug.	**348**	**121**	**34,8**

Wie sehr diese positive Gesamtausbeute von nur 35% von der Mannigfaltigkeit des Krankenmaterials abhängt, konnte sofort an einem bestimmten Teil der untersuchten Sputen demonstriert werden. Der eine der Einsender, *W. Hildebrandt*-Freiburg, wurde gebeten, seine 31 Fälle vom Juni bis Juli anamnestisch auf ihren Zusammenhang mit der „spanischen Grippe“ zu analysieren, und stellte mit liebenswürdiger und verständnisvoller Bereitwilligkeit fest:

Von den 31 Patienten war der Zusammenhang mit der Epidemie nachweisbar bei 17; ohne nachweisbaren Zusammenhang blieben also 14. Der bakteriologische Befund war positiv:



von den 31 Sputen insgesamt bei 13 = 42,0%
von den 14 sporadisch erkrankten bei 3 = 21,4%
von den 17 epidemisch erkrankten bei 10 = 58,8%

Und noch günstiger stellten sich die Ergebnisse in einem Lager englischer Kriegsgefangener, das bis zum Hochsommer seuchefrei geblieben war und erst im August plötzlich in erheblichem Umfange von der Epidemie ergriffen wurde. Da die Erkrankung bei der großen Mehrzahl der Patienten äußerst leicht verlief, mußten nur etwa 50 von ihnen in Lazarettbehandlung genommen werden. Unter diesen wurde der Auswurf von 40 Mann zur Untersuchung eingesandt, ausnahmslos von Erkrankungen ohne jede Komplikation, also reinen Influenzafällen. Diese erste Untersuchung ergab 20 positive Fälle, also 50%. Von den 20 negativen Einsendungen konnten wenigstens 5 noch einmal wiederholt werden und erlaubten den Nachweis noch in zwei Fällen. So waren also von 40 Patienten 22 positiv = 55%. Alle positiven Proben enthielten Eiter, bestanden also wirklich aus Lungen- und Bronchialsputum. Dagegen enthielten von den 18 negativen Proben nicht weniger als 8 ausschließlich Speichel, 3 weitere Speichel und Schleim ohne jede Beimengung eitriger Teile, wie in allen Fällen sorgfältig beim Eingang des Materials, also vor der Untersuchung, notiert wurde. So gewinnt das Gesamtresultat ein ganz anderes Aussehen: von den 40 eingesandten Untersuchungsproben waren also nur 29 wirklich Sputen. Und diese ergaben ein positives Resultat in 22 Fällen, d. h. in *75,9%*.

Dies bakteriologische Material aus der ersten Periode der Pandemie beweist also zweierlei: es zeigt, daß schon die Untersuchung des Sputums allein, ohne Zuhilfenahme anderer ergänzender Methoden, wie der Hustenplatte und des Abstriches aus dem hinteren Nasenrachenraum, in klinisch und epidemiologisch reinen Fällen den Nachweis der Influenzabacillen in 59—76% erlaubt. Ein allgemeineres, nicht gesichtetes Material oder die Untersuchung von grippeverdächtigen, sporadischen Fällen dagegen drückt diese Ziffer sofort auf 35—21% herab, ein Beweis, wie eng das Vorkommen der Erreger in jener Anfangsperiode der Epidemie an den Weg der Seuche gebunden war und keineswegs als ubiquitär angesehen werden kann.

Die wichtigen Feststellungen, die unser Genter Laboratorium in den Jahren 1916 und 1917 mit dem Nachweis *agglutinierender* Antikörper im Serum Influenzakranker bei geeigneter Auswahl des Antigens gemacht hatte [*Levinthal*[1])], fanden auch im Sommer 1918 am Material der großen Epidemie ihre Bestätigung, wobei die starke Zunahme

[1]) *W. Levinthal* (Gent), Bakteriologische und serologische Influenzastudien. Diese Zeitschr. 86, 1. 1918.

der positiven Fälle innerhalb von zwei Untersuchungsmonaten bemerkenswert ist. Der *Widal* wurde angestellt:

In der Zeit vom	Gesamtzahl	Davon pos.	In %
1. bis 30. Juni . .	15	8	53,3
1. bis 15. Juli . . .	14	12	85,7
Summe	29	20	69,0

Als positiv wurden starke Agglutinationen in den Verdünnungen 1 : 25 und darüber gerechnet.

Unter diesen Fällen befand sich ein Pat., der wegen einer genuinen Pneumonie am 9. VII. in Lazarettbehandlung gekommen war. Am 17. VII. zeigte sein Sputum eine Reinkultur von Pneumokokken; der Influenzawidal war am gleichen Tage vollständig negativ. Offenbar wurde der Kranke während seines Lazarettaufenthaltes mit Influenza infiziert, die zu einer lange dauernden eitrigen Bronchitis mit Fieber führte. So zeigte denn eine zweite Sputumuntersuchung am 29. VII. fast eine Reinkultur von Influenzabacillen; der Grippewidal aber war am 1.VIII. stark positiv geworden.

Während in diesem Falle die heftige und lange dauernde Erkrankung, der harte Kampf des Organismus mit dem Virus, unter den Augen der Untersucher zu der Entstehung starker Agglutinine geführt hatte, war von vornherein bei der hoch akuten und schnell abklingenden Form des einmaligen Influenzaanfalles eine kräftige Reaktion viel weniger zu erwarten, eine Vermutung, der z. B. auch *Oeller*[1]) von den gleichen Erwägungen her Ausdruck gegeben hat. Und dieser Erwartung entsprachen Resultate, wie sie an den erwähnten Engländern erhoben werden konnten. Eingesandt wurden in den ersten Tagen der Erkrankung Blutproben von 44 Patienten (darunter 4 unbrauchbare), und zwar einerseits von den 40 Kranken, deren Auswurf in 55% positiven Bazillenbefund zeigte, und andererseits von 4 weiteren völlig sputumfreien. Der größere Teil dieser serologischen Untersuchungen wurde 2—3 Wochen später wiederholt. *Tabelle II* gibt Auskunft über die Stärke des Widals mit dem zugehörigen Bakterienbefund des Sputums und dem Ausfall der Reaktion nach der Genesung.

Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß auch unter den 22 serologisch negativen Fällen sich 9 = 41% bacillenpositive befinden; das spricht gegen den Einwand, der mehrfach gegen die Bedeutung des Widals erhoben worden ist, daß schon das Vorhandensein der Bacillen auch ohne ihre pathogene Rolle die serologische Reaktion erwarten ließe, und ihr daher jede Beweiskraft im Sinne der *Pfeiffer*schen Lehre abgehe. Andererseits konnte die Diagnose noch in 7 bakteriologisch negativ gebliebenen Fällen serologisch gesichert, also rein

[1]) *Hans Oeller* (Leipzig), Kritische Studien zum Influenzaproblem. Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 44.



Tabelle II.

Widal bei 44 hochakut und leicht erkrankten englischen Kriegsgefangenen im August 1918 in Belgien.

Stärke des Widals	Zahl	Davon I.-B. im Sputum	Widal wiederholt nach $2^1/_2$ Wochen	Resultat des 2. Widals
++	2	2 = 100%	1	++
+ bis ++ . .	2	2 = 100%	2	±, (+)
+	7	4 = 57,1%	3	±, ±, —
±	7	3 = 42,9%	6	2 ±, 4 —
—	22	9 = 40,9%	18	alle —
Unbrauchbar .	4	2		

++ stark positiv 1 : 25 bis 1 : 100
\+ positiv 1 : 25 bis 1 : 50
(+) positiv 1 : 25
± angedeutet 1 : 25
– negativ 1 : 25.

diagnostisch gesehen, von 55 auf 66% gesteigert werden. Darin mußte, wie mehrfach betont, in jener Frühzeit der Epidemie der Wert des Widals gesehen werden, während freilich heute seine diagnostische Verwendbarkeit nach der maximalen Durchseuchung aller Länder erheblich einzuschränken sein dürfte.

Nebenher sei erwähnt, daß auch einige Versuche der Komplementbindung zum Vergleich mit dem Widal im Sommer 1918 angestellt wurden. Bei Verwendung geeigneter Bakteriensuspensionen als Antigen konnte eine Übereinstimmung beider Reaktionen, qualitativ und quantitativ, in 43 von 54 Seren, davon 29 positiven und 14 negativen, also in 80%, erwiesen werden, während 5 mal die Komplementbindung den Widal, und 6 mal der Widal den Bindungsversuch an Schärfe übertraf.

Die bakteriologischen Untersuchungen an Patienten der späteren Seuchenschübe wurden in Berlin am Institut „Robert Koch" unter der Ägide von *F. Neufeld* mit dem Material der Infektionsabteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses (*U. Friedemann*) und an gelegentlichen Fällen aus der Stadt fortgesetzt. Und zwar wurde mehr und mehr regelmäßig die Bearbeitung von Sputum ergänzt durch die von *Chievitz* und *Meyer*[1]) für die Keuchhustendiagnose inaugurierte Hustenplatte und später noch durch Abstriche aus dem hinteren Nasenrachenraum.

Während der größte Teil des Jahres 1919 mit seinem unbestimmten Epidemieverlauf wenig geeignetes Material zu wissenschaftlicher Forschung an Influenzakranken bot und zum Studium des bakteriologischen Bildes bei Keuchhusten, Masern u. a. (s. unten) benutzt

[1]) *Ingeborg Chievitz* und *Adolph H. Meyer* (Kopenhagen), Eine Methode zur Frühdiagnose des Keuchhustens (die Hustenaussaatmethode). Münch. med. Wochenschr. 1918, Nr. 27, und Ann. Pasteur **30**, 503. 1916.

wurde, brachte der Januar 1920 jene plötzliche und heftige Seuchenwelle, die Mitte März ebenso unvermittelt abbrach. In dieser Zeit kam einmal klinisches Material, und zwar 30 Fälle, zur Untersuchung, und ferner wurden 9 Influenzasektionen genauer bakteriologischer Bearbeitung unterzogen. Das Resultat der ersten Gruppe gibt *Tabelle III*.

Tabelle III.

Kultureller Nachweis der Influenzabacillen in Sputum und Hustenplatte Anfang Januar bis Mitte März 1920 in Berlin.

Es wurde untersucht	Zahl	Positiv	In %	Negativ	In %	Fraglich	In %
Nur Sputum . . .	11	8	72,7	3	·	—	·
Nur Hustenplatte .	2	1	·	—	·	1	·
Beides	17	14	82,4	3	·	—	·
Insgesamt	**30**	**23**	**76,7**	6	20,0	1	3,3

Die Hinzunahme der Hustenplatte konnte also die Ausbeute auf 82,4% gegen 72,7% bei Sputumuntersuchungen allein steigern. Denn von den *14 positiven* Fällen, die beide Methoden zur Diagnose heranzogen, waren:

Sputum +, Hustenplatte + = 6,
" +, " — = 3,
" —, " + = 5.

Unter den *23 positiven* Fällen waren 3 völlig unkomplizierte Grippen im Stadium des frühesten Krankheitsbeginnes; 14 Fälle dagegen zeigten mehr oder weniger schwere Influenza-Bronchopneumonien. Die 6 *negativen* Fälle stellten dar:

1. eine *Bronchitis*, bei der die Diagnose Influenza vom Kliniker im Krankenblatt als zweifelhaft bezeichnet ist, mit überwiegendem Pneumokokkenbefund;

2. und 3. ganz frische Grippen mit Sitz der Erkrankung im *Halse* ohne klinische Lungenbefunde;

4. eine *Lobärpneumonie* nach Grippe mit zahlreichen Pneumokokken neben Mikrococcus catarrhalis;

5. eine *Streptokokkenpneumonie* und

6. ein schweres *Empyem* mit flacher Atmung und minimaler Expektoration eines leicht rostfarbenen Pneumokokkenauswurfs.

Der *fraglich* gebliebene Fall, bei dem eine einzige verdächtige Kolonie auf der Hustenplatte zu finden war, zeigte einen leichten Grippeanfall ohne Auswurf und frei von jedem Brustbefund.

Über die Mengenverhältnisse der gefundenen Influenzabacillen bei den 23 positiven Fällen gibt *Tabelle IV* Auskunft.

Tabelle IV.

Zahl der gefundenen Influenzabacillen bei den 23 positiven Fällen.

Große Menge I.-B.	in 10 Fällen
Mittlere Menge I.-B.	in 7 "
Geringe Menge oder vereinzelte Kolonien	in 6 "
Summe	23 Fälle.

Während also die Untersuchung dieser 30 klinischen Fälle den Nachweis der Influenzabacillen in 77% erbrachte, waren die 9 Sektionen

derselben Epidemiewelle ohne Ausnahme positiv. Und zwar konnten die Erreger in allen Fällen aus den Lungen, und nicht nur aus den bronchopneumonisch infiltrierten Herden, sondern auch, soweit untersucht, aus den lufthaltigen Partien gezüchtet werden, ja selbst ein septischer Lungeninfarkt mit zahlreichen Streptokokken zeigte noch zwei Influenzakolonien.

Von 7 untersuchten Bronchialdrüsen waren 6 positiv, von 6 untersuchten Milzen 3.

Tabelle V zeigt nicht nur die Beteiligung der untersuchten Organe, sondern auch die Verteilung der Begleitkeime, der mischinfizierenden Pneumokokken, Streptokokken, Staphylokokken.

Tabelle V.
Bakteriologische Organbefunde bei 9 Sektionen im Frühjahr 1920 in Berlin.

Organ	Zahl	I.-B. +	in %	I.-B. rein	Mischinfektion mit					
					Pneumokokken	Streptokokken	Staphylokokken	Pneumokokken und Streptokokken	Pneumokokken und Staphylokokken	Streptokokken und Staphylokokken
Lungen Pneumonische Herde	9	9	100,0	—	1	1	3	1	2	1
Lungen Lufthaltige Partien	5	5	100,0	—	—	—	1	1	3	—
Lungen Septischer Infarkt .	1	1 (2 Kol.)	.	—	—	1 (+++)	—	—	—	—
Bronchial-Drüse . . .	7	6	85,7	1	2	1 (rein)	—	—	3	—
Milz	6	3	50,0	2	—	2 (rein)	2 (1 rein)	—	—	—
Pia mater	3	2 (1 steril)	66,7	—	1	1	—	—	—	—
Gesamtzahl der Sektionen	9	**9**	**100,0**							

Die Menge der Influenzakolonien aus Lunge und Bronchialdrüse war überall mehr oder minder reichlich, dagegen wuchsen die Erreger aus den Milzaussaaten und dem Gehirn nur in geringen oder vereinzelten Kolonien. Das mikroskopische Präparat der direkten Organausstriche ließ die feinen Bacillen immer nur schwer erkennen, auch bei reichster Kulturausbeute, ein Gegenstück zu dem schwierigen mikroskopischen Nachweis in Sputumpräparaten. Es muß immer wieder, wie der eine von uns (*L.*) es mehrfach getan hat, betont werden, daß auch in Fällen, in denen die Stäbchen fast in Reinkultur aus sorgfältig aufgeschlossenen Flocken (s. unten) wachsen, der mikroskopische Ausstrich oft im Stiche läßt. Gewiß verfügen auch wir über Präparate aus letzter Zeit, die mit ihren zahllosen in Nestern, Fischzügen und diffus zerstreut erscheinenden, auch intracellulär gelagerten Bacillen die gleichen

Bilder zeigen, wie sie *Pfeiffer* schon 1889—1892 gesehen und beschrieben hat, und wie sie *Neufeld* aus dem Anfang der 1918-Epidemie in seiner Sammlung aufbewahrt. Das bleiben aber Seltenheiten; und Erwägungen, wie sie *v. Angerer*[1]) jüngst wieder zum Ausdruck bringt, widerlegt die Praxis.

Ehe wir die diagnostische Ausbeute der letzten Epidemiewelle aus dem Januar des laufenden Jahres 1922 darstellen, sei über ein paar bemerkenswerte Einzelfälle aus der interepidemischen Zeit von 1920 bis 1922 berichtet.

Im Hochsommer 1920 kam eine junge Frau (*Fall 68*) zur Sektion, die an akuter Ruhr in wenigen Tagen zugrundegegangen war.

Außer den charakteristischen hämorrhagischen Blind- und Dickdarmveränderungen, aus denen die echten Ruhrbacillen (*Shiga-Kruse*) gezüchtet wurden (Dr. *Elkeles*), zeigten beide Lungen neben frischen pleuritischen Verwachsungen in den hypostatischen Unterlappen kleine, dunkelrote, chronisch-indurative Herde. Es bestanden also chronisch-grippöse Prozesse, die in der anamnestischen Feststellung eines seit 2 Jahren bestehenden Hustens klinischen Ausdruck gefunden hatten.

In sämtlichen untersuchten Teilen der Lunge wie in der Bronchialdrüse konnten reichlich *Influenzabacillen*, zum Teil neben grün wachsenden Streptokokken, nachgewiesen werden, während die Milzaussaat nur banale Keime (Coli) ergab. Es sei an dieser Stelle zum erstenmal auf einen Befund hingewiesen, der später im Zusammenhange mit der morphologischen Darstellung seine Deutung finden soll. Unter den Influenzabacillen ließen sich zwei Gruppen differenzieren, die keinerlei Unterschied in Kolonieform und Wachstum aufweisen, sich vielmehr ausschließlich im mikroskopischen Bild unterscheiden. Der eine Typ zeigt, auf der Kochblutplatte gezüchtet, ganz gleichmäßige, winzige Kokkobacillen, vergleichbar dem mikroskopischen Präparat einer Melitensiskultur. *Wir sehen in dieser Form den Haupttyp der Pfeifferschen Stäbchen und bezeichnen ihn als echten Influenzabacillus* (*Typ I*). Der zweite Typ, wieder vom optimalen Nährboden stammend, fällt sofort durch einen höheren Grad von Pleomorphie auf; der Gesamthabitus ist deutlich bacillenartiger, und zwischen den schlanken, aber immer noch recht kurzen Stäbchen kommen vereinzelte Scheinfäden vor. Soviel mag einstweilen zur Charakterisierung dieses *Typ II*, *für den wir die alte Bezeichnung Pfeiffers als Pseudoinfluenzabacillus beibehalten*, genügen. Der geschilderte Ruhrfall mit seiner *chronischen* Lungeninfluenza wies also nebeneinander beide Typen auf. Die Agglutination beider Stämme mit einem Influenzaimmunserum vom Kaninchen zeigte ganz die gleichen Werte in Höhe und Intensität der Reak-

[1]) *Carl v. Angerer* (Erlangen), Kritische Untersuchung über die Ätiologie der Influenza. Arch. f. Hyg. **90**, 254. 1922.



tion. Tabellarisch geordnet kommt die bakteriologische Analyse mit den Mengenverhältnissen am klarsten zum Ausdruck.

Tabelle VI.

Sektion Fall 68. Akute Ruhr; chronische Influenza.

11. VI. 1920	Lunge r. o.	Lunge r. u.	Lunge l. u.	Bronchialdrüse	Milz	Dickdarm
I.-B.	+ } ++	+	++ } +++	+ } +	—	·
Pseudo-I.-B.	+	— ?	++	+	—	·
Grüne Streptokokken	—	++	++	+++	—	·
Banale (Coli)	—	++++	++++	—	++++	·
Shiga-Ruhr	·	·	·	·	·	+

Fall 74 ist ein hochakuter Grippeanfall eines 15 jährigen Burschen mit allgemeiner Streptokokkenmischinfektion, die in den letzten Tagen vor dem Tode zu einer hämorrhagischen Pleuritis auf beiden Seiten, Endokarditis und cerebralen Erscheinungen, wie Benommenheit und Krampfanfällen, geführt hatte.

Die Sektion zeigte neben frischen pleuritischen Adhäsionen an den Lungenspitzen hämorrhagisches Pleuraexsudat und fibrinöse Beläge; faustgroße bronchopneumonische Herde im rechten Ober- und linken Unterlappen, hochrote Bronchialschleimhaut, eine frische Endocarditis verrucosa und große septische Milz. Gehirn o. B.

Das bakteriologische Bild gibt *Tabelle VII.*

Tabelle VII.

Sektion Fall 74. Grippe-Bronchopneumonie.

29. XI. 1920	Lunge r. o.	Lunge l. u.	Bronchialdrüse	Milz	Gehirn	
					Konvexität	Höhlengrau
I.-B.	—	+	—	—	—	—
Streptococcus haemolyticus	+++	++++	++++	++++	++++	++++
Staphylococcus aureus	++++	+ (2 Kol.)	+ (20 Kol.)	—	—	—

Die Mikroskopie beider Atrioventrikularklappen läßt in den fibrinös belegten Klappen sowohl wie in der Herzmuskulatur die Streptokokken erkennen.

Hier hat also die Streptokokkenmischinfektion den primären Erreger fast völlig verdrängt und nur noch an einer Stelle den Nachweis weniger Influenzabacillen gestattet.

Eine Kombination von auch klinisch diagnostizierter akuter Grippebronchopneumonie und Miliartuberkulose zeigte die Sektion eines 44 jährigen Mannes (*Fall 81*) im Januar 1921.



Zwischen den zahllosen Tuberkeln der Lunge fanden sich, auch mikroskopisch, bronchopneumonische Herde; Trachea und Bronchien waren rot, geschwollen und schleimbedeckt; die Bronchialdrüsen weich und geschwollen.

Während beide Unterlappen der Lunge bei maximalem Tuberkelbacillenbefund kulturell steril blieben, wurden in der Bronchialdrüse spärlich und im Trachealschleim massenhaft *Influenzabacillen* neben Pneumokokken kulturell nachgewiesen. Die Milzaussaat war steril.

Nur außerordentlich spärlich sind die Fälle von *Encephalitis lethargica*, die bakteriologisch von uns studiert werden konnten. Diese Studien waren nicht ätiologisch orientiert; jede Stellungnahme zum spezifischen Virus der Affektion bleibe hier ausgeschaltet. Uns lag daran, auch bakteriologisch den auffälligen Zusammenhängen der Krankheit mit der Influenza, die Klinik und Epidemiologie feststellen, nachzugehen. Der erste von 3 Fällen (*Fall 76*) bot klinisch das charakteristische Bild der Schlafkrankheit, die mit hohem Fieber ohne jede Komplikation von seiten der Lungen in etwa 14 Tagen zum Tode führte.

Die Sektion, die leider die histologische Untersuchung des Gehirns vermissen läßt, ergab, abgesehen von alten Pleuraadhäsionen, nur starkes Lungenödem, schleimig-eiterige Entzündung der Bronchialschleimhaut, Stauungen in Leber, Milz und Niere, Rötung der Pia mater.

Tabelle VIII zeigt das bakteriologische Sektionsprotokoll.

Tabelle VIII.

Fall 76. Encephalitis lethargica.

18. XII. 1920	Trachea	Lungen	Bronchialdrüse	Milz	Gehirn subarachnoideal
I.-B.	—	+++	+	—	+
Streptococcus anhaemolyticus .	++++	—	++	+	—
Pneumokokkus .	++	+++	+	—	—
Banale	++	—	+	++	Staphylococc. alb. + „ citreus ++

Hier wurden also *Influenzabacillen* in Lunge, Bronchialdrüse und weicher Hirnhaut nachgewiesen, an letzter Stelle, abgesehen von saprophytischen Staphylokokken, rein, wenn auch spärlich.

Nicht so einwandfrei war die klinische Diagnose der Encephalitis in einem zweiten Sektionsfalle aus dem Januar 1921, der außer starker Hyperämie des Gehirns eine Phthisis pulmonum mit Tuberkeln, Knoten und Kavernen zeigte. Während aus der Milz nur hämolytische Streptokokken gezüchtet wurden, wies die Lunge diese Streptokokken und *Influenzabacillen* in größter Menge auf. Von den untersuchten Teilen des Gehirns war die Oberfläche subarachnoideal und die graue Substanz am Boden des 4. Ventrikels steril. Dagegen wuchsen aus dem Liquor



des 3. Ventrikels Streptokokken und aus dem Seitenventrikel wenige Streptokokken neben einer einzigen Kolonie von *Influenzabacillen*.

Und schließlich wurde uns im April 1921 ein junger Mann zugeführt, der vom 6. I. bis 20. II., zeitweise schwer somnolent, wegen Encephalitis im Krankenhause gelegen hatte. Seit seiner Entlassung litt er an Husten mit Auswurf, und in der Tat ließen sich sowohl aus dem Rachen wie mit der Hustenplatte, und besonders reichlich aus dem eitrigen Sputum, neben wenigen Pneumokokken und grün wachsenden Streptokokken die *Influenzabacillen* nachweisen. Der langen Dauer der Infektion entsprach hier ein stark positiver Influenzawidal; bemerkenswerterweise jedoch wurde der Eigenstamm des Patienten vom Serum nicht beeinflußt, wie auch die Prüfung mit unserem agglutinierenden Immunserum vom Kaninchen die Inagglutinabilität dieses Stammes ergab.

Über die Verwendung des Influenzawidals in unserem Laboratorium zur Sicherung der Diagnose in einem der so überaus seltenen Fälle von Influenza-*Myositis* hat *Vormann*[1]) jüngst berichtet.

Dagegen war der Widal nur schwach positiv in einem interessanten Fall aus dem Dezember 1921, einer doppelseitigen schweren und langdauernden Lungentuberkulose eines Kindes, von dem uns ein etwas blutig verfärbter Empyemeiter zur Untersuchung eingesandt wurde. In diesem Eiter fanden sich in Reinkultur die *echten Pfeiffer*schen Stäbchen, während das Sputum selbst ein paar Tage später nur Tuberkelbacillen enthielt. Im Verlaufe der Krankheit, in der hochfieberhafte Perioden mit völlig fieberfreien Tagen abwechselten, wurde uns das eitrige Punktat noch zweimal geschickt, und immer ließen sich in Reinkultur große Mengen von Influenzabacillen züchten. Während diese aber das erstemal den echten Typ gezeigt hatten, trugen sie mit Formvergröberung und Scheinfäden bei den späteren Züchtungen die Merkmale des Typus II, der Pseudoform, die uns oben schon einmal als Mutante des Grundtypus begegnet war.

Es kann nicht überraschen, daß unsere Anschauungen über die Bedeutung der *Pfeiffer*bacillen auch durch die Grippeepidemie des letzten Frühjahrs 1922 ihre volle Bestätigung fanden. In 13 klinischen Fällen mißlang der Nachweis des Mikroben nur ein einziges Mal, einem 14 Tage dauernden, aber leichten Infekt ohne Organbefund. Dagegen war der Influenzawidal hier noch in einer Konzentration von 1 : 100 positiv. In einem zweiten Fall, einer längere Zeit dauernden doppelseitigen Lungentuberkulose mit linksseitigem künstlichen Pneumothorax, führte zwar die Untersuchung am zwölften Tage eines Influenzaanfalles nicht zum Nachweis der charakteristischen Grippestäbchen, doch wurde aus

[1]) *Vormann* (Angermünde), Über einen an mir selbst beobachteten serologisch festgestellten Fall von Influenza-Myositis. Münch. med. Wochenschr. 1922, Nr. 5.

dem hinteren Nasenrachenraum ein Bacillus in großer Menge gezüchtet, den wir *als Typ IV* unten ausführlich zu beschreiben haben werden. Der Influenzawidal war auch hier kräftig positiv.

Die anderen 11 Fälle, davon 4 unkomplizierte Anfälle, 5 Grippen mit Pneumonien und 2 Influenzen bei bestehender Tuberkulose, waren *sämtlich* positiv, also insgesamt zu 84,6%.

Dieser bakteriologische Befund steht in striktem Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen, die *Curschmann*[1])-Rostock jüngst veröffentlicht hat. Nach dieser Mitteilung konnten weder bei den reinen, noch bei den pneumonisch komplizierten Fällen diesmal Influenzabacillen gefunden werden, auch Streptokokken fehlten ganz, während die Pneumokokken das Feld beherrschten. Dem entspricht das Überwiegen der lobären Form (25 Fälle) mit guter Prognose über die außerordentlich infausten Bronchopneumonien (7 Fälle).

Auch unter unseren 5 Lungenentzündungen waren 3 Lobärpneumonien mit Pneumokokken neben den Influenzabacillen, 1 Streptokokkenpneumonie als Herd im rechten Unterlappen, während der letzte Fall, zwar anfangs als einseitige Unterlappenbronchopneumonie diagnostiziert, nach seinem Verlauf, dem Hinzutritt eines Pneumokokkenempyems, wohl doch in die erste Gruppe einzureihen sein dürfte; auch hier waren die Pneumokokken neben den Influenzabacillen schon frühzeitig in Sputum und Hustenkultur, allerdings zusammen mit Streptokokken, nachzuweisen.

Bemerkenswerterweise fand sich in unseren 11 influenzapositiven Fällen 6 mal ausschließlich der Typ I, 3 mal der Typ II, während 2 mal neben den echten Influenzabacillen die Pseudoform nachgewiesen wurde. Wir sind davon überzeugt, daß diese Zunahme von Pseudoformen nicht zufällig ist, sondern in Immunitätsvorgängen mit dem Altern der Epidemie begründet liegt. Denn daß diese Pseudovarietät keine „Dauermodifikation", sondern nur eine sehr labile Variante darstellt, werden wir später beweisen können.

Bei diesen 11 positiven Fällen wurde zur Untersuchung verwandt:

nur Sputum	4 mal
nur Hustenplatte	1 mal
Rachenabstrich und Hustenplatte	1 mal
Sputum, Rachenabstrich und Hustenplatte . .	5 mal

Und diese letzte Gruppe ließ die Bacillen gewinnen:

aus allen drei Kulturen in 3 Fällen,
nur aus Rachen und Husten in 1 Fall,
aus dem Rachen allein in 1 Fall.

Von *Sektionen* konnte in dieser Zeit 3 mal Material zur Verwendung gelangen, wiederum ohne Ausnahme mit positivem Befunde. Das

[1]) *Hans Curschmann* (Rostock), Klinisches über die derzeitige Grippe. Med. Klinik 1922, Nr. 16.



eine Mal handelte es sich um eine doppelseitige Grippepneumonie, links von croupösem, rechts von eitrigem Charakter, bei einem 65 Jahre alten Manne *(Fall 2/22)*. Die stark hyperämische Trachealschleimhaut bedeckte schmieriger Eiter, die Milz war septisch.

Das bakteriologische Sektionsprotokoll gibt Tabelle IX.

Tabelle IX.

Fall 2/22. Grippepneumonie, links croupös, rechts eitrig.

4. I. 1922	Lunge l. o. (hepatisiert)	Lunge r. u.	Eiter aus r. Lunge	Trachea	Bronchialdrüse	Milz
I.-B.	+++	++	+++	++	—	—
Pneumokokken.	++	++	++	++	—	—
Pneumococcus mucosus . .	+++	++	+	++	+	+
Streptococcus haemolyticus.	+++	+++	+	++	—	+ (2 Kol.)
Banale	+	—	+	++	—	—

Es darf darauf hingewiesen werden, daß auch aus den lobärpneumonisch affizierten, also hepatisierten Lungenbezirken große Mengen von Grippestäbchen zu züchten waren.

In dem zweiten Fall *(10/22)* war zu einem plötzlichen Influenzaanfall mit Bronchitis unter den Augen der Kliniker eine doppelseitige Pneumonie getreten. Die Obduktion zeigte im linken Oberlappen graue Hepatisation mit nekrotischen Herden, rechts oben das Bild der Bronchopneumonie. Daneben bestand Pericarditis exsudativa und linksseitige Pleuritis sicca. Zur Untersuchung kam Material aus einem nekrotischen Herde des linken Oberlappens und ergab reichlich *Influenzabacillen* und Pneumokokken.

Die interessanteste Krankengeschichte hat schließlich ein Fall aus dem Hedwigs-Krankenhaus *(930)*, von dem uns ein Stück der Hirnoberfläche mit dickem, eitrigem Belag zur Untersuchung geschickt wurde.

Der Einsender teilte mit: vor 4 Wochen Grippe, nach 14 Tagen wieder arbeitsfähig. Aber schon am nächsten Tage erneute Krankmeldung wegen heftiger Bruststiche. Nach 14tägigem Krankenlager zu Hause Aufnahme im Krankenhause: Sensorium leicht benommen, Temperatur subfebril. Keine Nackensteifigkeit, kein Kernig. Über der ganzen rechten Lunge massenhaft pleuritische Reibegeräusche. Nach 2 Tagen heftige Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit und Kernig positiv. Liquor cerebrospinalis sehr trüb, erhöhter Druck. Exitus letalis 2 Tage darauf. Sektionsbefund: Pleuritis sicca dextra acuta; Bronchitis; beiderseits Lungenödem. *Eitrige Meningitis an Gehirnbasis und Konvexität.*

Aus den eitrigen Belägen der Hirnhäute wuchsen sehr reichlich die schon im direkten Ausstrichpräparat erkennbaren Pneumokokken, daneben aber einige Kolonien von *Influenzabacillen.*



Allen drei Sektionsfällen gemeinsam ist also die Mischinfektion mit Pneumokokken, die ganz offensichtlich auch in Berlin in Übereinstimmung mit den Rostocker Beobachtungen *Curschmanns* die Grippekomplikationen der letzten Epidemie beherrschten.

Das klinische und Sektionsmaterial der Epidemie vom Frühjahr 1922, zusammengezählt unter Einrechnung des Typ IV (s. unten), ergibt also bei 16 Fällen 15 positive = *93,75%*.

Der *Influenzawidal* wurde in dieser Zeit in 9 Fällen angesetzt; von diesen gehörten 5 zu der Gruppe von Patienten des Virchow-Krankenhauses, bei denen auch bakteriologisch die Diagnose von uns gesichert war; dazu kamen die beiden oben schon angeführten Patienten, die von unseren 13 klinischen Fällen die einzigen ohne den typischen Influenzabacillenbefund darstellen; ferner eine foudroyant verlaufende, in 3 Tagen zum Tode mit Pneumonie und Sepsis führende, „galoppierende“ Influenza (Fall 11/22), bei der in vivo nur Blut als Untersuchungsmaterial zu erhalten war. Und schließlich war uns ein Blut zum Widal wegen der Differentialdiagnose Typhus oder Encephalitis nach Grippe eingesandt worden, bei dem im Gegensatz zu der sehr starken Influenzaagglutination die Reaktionen mit Typhus- und Paratyphusbacillen völlig negativ waren.

Alle diese 9 Fälle ergaben mehr oder weniger stark positiven Influenzawidal, also zu 100%, und zwar war die Reaktion

positiv, d. i. 1 : 50 bis 1 : 100, in 3 Fällen

stark positiv, d. i. 1 : 25 komplett, 1 : 100 bis 1 : 200 schwach, in 3 Fällen, darunter die galoppierende Grippe (11/22), und

sehr stark positiv, d. i. 1 : 25 bis 1 : 50 komplett, 1 : 200 kräftig, 1 : 400 schwach, in 3 Fällen,
darunter der zuletzt aufgeführte differentialdiagnostische Fall.

Zu diesem Material aus der letzten Epidemiewelle gehört nun endlich noch eine Gruppe von Erkrankungen bei Säuglingen und Kleinkindern, die von Dr. *Henschel*-Lichterfelde beobachtet und uns generell etwa folgendermaßen geschildert wurde: Beginn der Erkrankung mit Fieber, Schnupfen, Bronchitis, akuter Laryngitis, auch Pharyngitis. Dann Entzündung beider *Conjunctiven*; manchmal auch sofort diese *Bindehautentzündung*, die eitrig ist und die Augenlider verklebt wie bei einer Blennorrhoea neonatorum. Nach Abklingen der akuten Entzündungserscheinungen Heilung. Von 9 solcher Fälle wurden uns Conjunctivalabstriche, von einem Fall ein Rachenabstrich zur Untersuchung eingesandt, und trotz der ungünstigen Bedingungen durch Transport und Eintrocknung, deren bedenklichen Einfluß auch *Loewenhardt*[1])

[1]) *Felix E. R. Loewenhardt* (Breslau), Bakteriologische Befunde bei Influenza. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 29.



an Rachenabstrichen überzeugend dargetan hat, konnten noch aus 4 der Bindehautabstriche, darunter 2 mal rein, Influenzabacillen gezüchtet werden. Ebenfalls sehr stark positiv war der Rachenabstrich des zehnten Falles (Fall 42); hier wiesen die Mikroben den Typ der extremen Pseudoform (s. unten) auf.

Zum Unterschied von den Influenzabacillen, wie sie als echte oder als Pseudoform in den Grippefällen bei Erwachsenen isoliert wurden, und die alle, wenn auch in sehr verschiedenem Grade, durch Immunserum agglutiniert wurden, fanden sich unter den Conjunctivalstämmen zwei völlig inagglutinable. Die interessanten serologischen Beziehungen des extremen Pseudostammes 42 aus dem Rachenabstrich werden uns später noch zu beschäftigen haben.

Außerdem fanden sich in den Conjunctivalkulturen 2 mal Pseudodiphtheriebacillen rein, einmal avirulente Diphtheriebacillen neben den Grippestäbchen, einmal Pneumokokken, einmal Streptokokken neben Friedländerbacillen, einmal eine Reinkultur von gelben Staphylokokken.

Endlich sei als Rarität und zu dem Kapitel des Influenzabacillus als Eitererregers ein Fall chirurgischer Grippe berichtet (12/22): Die Krankengeschichte enthält die anamnestische Angabe eines kurz dauernden Grippeanfalles Ende Dezember 1921. Anfang März 1922 traten Schmerzen in der rechten Gesäßbacke auf; erst am 17. III. Überweisung ins Krankenhaus, wo ein Absceß diagnostiziert wird. Es scheint sich also um eine abscedierende Muskelentzündung gehandelt zu haben. Bei Incision am 18. III. entleerte sich reichlich Eiter, und aus diesem wuchs eine Reinkultur echter, auch durch starke Agglutination mit Immunserum identifizierter Influenzabacillen.

Wie also unsere bakteriologische Ausbeute im Verlauf und im Anschlusse an die letzte Frühjahrsepidemie eindeutiges Material im Sinne der *Pfeiffer*schen Lehre sowohl aus wissenschaftlich gesichteten und studierten wie auch aus rein diagnostischen Fällen darstellt, so ließ sich die ungeheure Zunahme von Influenzabacillen in dieser Zeit auch in Sputumausstrichen erkennen, die wegen Tuberkulose oder Tuberkuloseverdachts zum mikroskopischen Nachweise von Tuberkelbacillen eingesandt waren. Auch unerfahreneren Hilfskräften fiel in unserem Untersuchungsamt die Häufung von dicht mit Grippestäbchen besäten Präparaten auf, Bilder, die mit einem Schlage nach dem Abklingen der Epidemie wieder verschwunden waren.

Als Schlußstein auf dem ganzen Gebäude, das aus einem reichen, vier Epidemiejahren entstammenden Material aufgeführt werden konnte, sei ein letzter Grippefall aus unserer eigenen Umgebung mit seinem schlagenden Untersuchungsergebnis hierher gestellt. Der 80 jährige Professor Z. erkrankte am 28. IV. ganz plötzlich aus vollem Wohlbefinden und seiner bewunderungswürdigen Rüstigkeit heraus mit



großer Abgeschlagenheit und Frostgefühl an heftigem Husten und Nasenkatarrh. Die Temperatur war und blieb subfebril, nur gelegentlich 38° erreichend. Die gesamten Krankheitserscheinungen blieben auf Nase, Rachen, Kehlkopf und Trachea beschränkt. Die Nasennebenhöhlen waren offenbar frei. Auswurf sehr gering, dagegen wurde ein paarmal am Tage aus der Nase ein fast rein eitriges, dem Rhinopharynx entstammendes Sekret entleert, das am fünften Krankheitstage zur bakteriologischen Untersuchung gelangte. Schon das direkte Ausstrichpräparat wimmelte von den feinen, ganz gleichmäßigen Grippestäbchen, die in Haufen und Zügen zwischen den Eiterzellen, nicht selten auch intracellulär, gelagert erschienen. Die Kultur ergab *Influenzabacillen* in dichtem Rasen und absolut rein[1]).

Wir glauben überzeugend dargetan zu haben, wie uns von allem Anfang der Pandemie an bis zum letzten Seuchenschub der vergangenen Monate in verschiedenen Untersuchungsgebieten der regelmäßige Nachweis der *Pfeiffer*schen Influenzabacillen geglückt ist, und sehen in diesem Ergebnis die Frucht langjähriger spezieller Schulung und zweckmäßiger Technik bei Verwendung optimaler Nährböden. Es sei daher erlaubt, von diesen Nährböden und der Züchtungsmethode noch einmal die Grundzüge hervorzuheben.

II. Influenzanährböden und Untersuchungstechnik.

Wenn es auch gar keinem Zweifel unterliegt, daß zur Züchtung von Influenzabacillen die gewöhnliche Blutmischplatte in der Hand des Erfahrenen ausreichende Dienste zu leisten vermag, so besteht heute kein Streit mehr über die Überlegenheit moderner Spezialnährböden, auf denen die Grippestäbchen in großen Kolonien und üppigem Rasen, statt der klassischen Tautröpfchenform, gedeihen. Wenn wir gleichwohl eine Besprechung der Mischblutplatte hier an den Anfang stellen, so deshalb, weil für die *Differenzierung* der verschiedenen Influenzabacillentypen, vor allem des vierten hämolysierenden (s. unten), ihre Verwendung unentbehrlich ist. So wird von uns jeder auf den optimalen Spezialplatten isolierte Stamm in Reinkultur auf seine mikroskopischen und Wachstumsmerkmale auch auf der 5 proz. Blutmischplatte geprüft.

Die Verwendbarkeit dieses Blutagars ist an eine Reihe von Vorbedingungen geknüpft; nicht jede Blutart eignet sich für unsere Zwecke; Menschen- und Kaninchenblut erweisen bei jeder Nachprüfung immer wieder ihre Überlegenheit; weit zurück steht Pferdeblut; Ziegenblut

[1]) *Nachtrag bei der Korrektur:* Eine Untersuchung des eitrigen Nasensekretes nach der Genesung am 20. VI. zeigte übereinstimmend im mikroskopischen Ausstrich wie kulturell mäßig viel Micrococcus catarrhalis, fast sämtlich phagocytiert, und wenige Pseudodiphtheriebacillen, dagegen keine Influenzabacillen mehr.

ist vollends ungeeignet. Wie *Olsen*[1]) es neuerdings wieder betont hat, ist nicht nur die Konzentration des Agars, die 2% nicht überschreiten soll, sondern auch sorgfältigste Einstellung des Alkalescenzgrades von größter Bedeutung. Leichte Bläuung von Lackmuspapier (*Merck*) wird verlangt; modern ausgedrückt, die Wasserstoffionenkonzentration soll p_H 7,3—7,5 betragen. Blutplatten, die mit frischem Blut hergestellt werden, müssen vor Verwendung ein bis mehrere Tage lagern, gleichsam reifen, da die frischen Platten kein Wachstum der hämoglobinophilen Bakterien gestatten. Der Grund dafür ist der, daß der Blutfarbstoff noch nicht in genügender Menge in den Agar diffundiert ist; er steckt, den Bakterien unerreichbar, in den intakten Blutkörperchen eingeschlossen. Diese Wartezeit wird daher überflüssig, wenn das Blut defibriniert, also mit Glasperlen kräftig geschüttelt, dem Agar zugesetzt wird. Noch besseres, wahrhaft üppiges Wachstum, selbst bei Verwendung von Pferdeblut, wird erreicht, wenn man das Blut vor seiner Mischung mit dem Agar in destilliertem Wasser — etwa zu gleichen Mengen — hämolysiert, wie wir jüngst feststellen konnten. Freilich ist dieser ausgezeichnete Influenzanährboden — *hämolysierter Blutagar* — nicht mehr zur Differenzierung der vier Typen zu verwenden. So lautet also die Vorschrift für den gewöhnlichen *Blutmischagar*:

Gründlich defibriniertes Kaninchenblut wird verflüssigtem, auf ca. 50° abgekühltem 2 proz. Nähragar von p_H 7,3—7,5 in einer Menge von 5% zugesetzt, gleichmäßig vermischt und ausgegossen.

Von den im Verlaufe der modernen Influenzaforschung angegebenen Spezialnährböden haben sich im wesentlichen nur drei durchgesetzt und Bürgerrecht in bakteriologischen Laboratorien erworben: der *Kochblutagar* von *Levinthal*, der *Oleathämoglobinagar* von *Avery* und der „*Schokoladenblutagar*“ der Amerikaner.

Wie *Olsen* (l. c.) hervorhebt, ist im Gegensatz zu den Verhältnissen auf der gewöhnlichen Blutplatte die Toleranz der Influenzabacillen gegen Alkalescenzschwankungen auf *Kochblutagar*[2]) eine viel größere; wir konnten neuerdings feststellen, daß erst bei p_H 7,9 und darüber geringe Beeinträchtigung des maximalen Wachstums bemerkbar wird, andererseits schon bei p_H 7,0—7,1 üppiges Gedeihen zu erzielen ist. Doch empfiehlt sich auch hier die Einstellung des Ausgangsagars auf p_H 7,3—7,5. So sei noch einmal die mehrfach publizierte Vorschrift nach unserer eigenen jahrelang erprobten Methode wiederholt:

[1]) *Otto Olsen* (Freiburg i. Br.), Untersuchungen über den Pfeifferschen Influenzabacillus während der Grippepandemie 1918—1920. Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I. Orig., **84**, 497 u. **85**, 12. 1920.

[2]) *W. Levinthal* (Gent, Belgien), a) Diese Zeitschr. vgl. Fußnote S. 459 und b) Neue bakteriologische und serologische Untersuchungsmethoden bei Influenza. Berl. klin. Wochenschr. 1918, Nr. 30.



2 proz. Nähragar, p_H 7,3—7,5, verflüssigt und auf etwa 60° C abgekühlt, wird im Kolben langsam und unter Schütteln zu etwa 5% mit Blut versetzt und gut gemischt. Man verwendet frisches oder defibriniertes Blut vom Menschen oder jeder beliebigen Tierart, am bequemsten defibriniertes Pferdeblut, natürlich steril entnommen. Das Gemisch wird im Dampftopf gekocht; diese Prozedur darf unter keinen Umständen die Dauer von 5 Minuten bei ca. 1 l, von 8—10 Minuten bei 2 l überschreiten, da „überkochter" Agar (*Pringsheim*) unbrauchbar wird. Das so erhitzte Blutagargemisch enthält Serum und Hämoglobin in groben schokoladebraunen Gerinnseln zusammengeballt und wird nun durch Wattefilter auf Glastrichtern, die vorher im Heißluftschrank sorgfältig sterilisiert worden, unter aseptischen Kautelen im 60°-Schrank filtriert. Der völlig klare und farblose Agar wird ohne weiteres in hochgefüllte Reagensgläser verteilt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Erst bei Bedarf stellt man die Röhrchen zur Verflüssigung höchstens 2 Minuten lang in ein bereits vorher kochendes Wasserbad und gießt sofort noch heiß zu Schrägröhrchen oder in Petrischalen aus.

Die Überlegenheit dieses Nährbodens beruht nicht allein darauf, „daß aus der Menge der verschiedensten Bakterienarten die üppigen Influenzakolonien leicht herausgefunden werden können, sondern vor allem in den quantitativen Verhältnissen; da die Influenzabacillen etwa die gleiche Koloniegröße wie Staphylokokken (oder Colibacillen) erreichen, Streptokokken und Pneumokokken jedoch dasselbe bescheidene Wachstum wie auf Blutplatten aufweisen, so würde aus einem Bakteriengemisch, das die Grippestäbchen nur in geringer Menge enthält, die Wachstumschance auch dieser spärlichen Keime eine ungleich höhere sein als auf den alten Nährböden, auf denen sie von der Begleitflora verdrängt würden" [*Levinthal*, Referat]. Die Influenzabacillen wachsen auf dem Kochblutagar in großen farblosen, transparenten, stark erhabenen Kolonien, die nur mit ähnlich, aber etwas opaker erscheinenden Meningokokken verwechselt werden können[1]). Bei einiger Übung wird der Untersucher auch die kleinen, trüben, runden und konvexen Kolonien der Streptokokken und die flachen oder gedellt wachsenden Pneumokokken mit Sicherheit schon makroskopisch diagnostizieren.

Nach ganz dem gleichen Rezept wird eine *Kochblutbouillon* bereitet, für die nach der Filtration eine Sterilisation durch einmaliges ganz kurzes Aufkochen über der Flamme oder im Wasserbad (1—2 Minuten)

[1]) Über das Wachstum von Gonokokken, Diphtheriebacillen usw. vgl.: *B. Galli-Valerio* et *M. Bornand* (Lausanne), L'agar de Levinthal comme milieu de culture de différentes bactéries et surtout du Micrococcus Gonorrhoeae. Schweiz. med. Wochenschr. 1920, Nr. 52.



unerläßlich ist. In ihr wachsen Influenzabacillen als üppiger Bodensatz und lassen die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar. Nur bei sehr hochgefüllten Röhrchen kann anfangs ein zartes Kahmhäutchen, das später ebenfalls zu Boden sinkt, wachsen, ein Ausdruck für das hohe Sauerstoffbedürfnis der Mikroben.

Während die Überlegenheit des Kochblutagars nur auf den geschilderten quantitativen Verhältnissen beruht, stellt der in Deutschland leider noch viel zu unbekannt gebliebene *Avery*-Agar[1]) einen ausgesprochen elektiv wirkenden Nährboden dar. Die Verwendung von oleinsaurem Natrium unterdrückt gewisse grampositive Kokken, vor allem Streptokokken und Pneumokokken, vollständig, während Katarrhalis, Staphylokokken und Diphtheroide, besonders üppig aber die Bacillen der Influenzagruppe gedeihen; Meningokokken wieder bleiben gehemmt. Die Originalvorschrift für die Herstellung lautet: Benötigt wird:

1. 2proz. Nähragar von p_H 7,3—7,5.

2. 2proz. Lösung von neutralem Natrium oleinicum (z. B. *Kahlbaum*) in destilliertem Wasser, autoklaviert als Standardlösung. Nach unseren Erfahrungen ist die Lösung nur beschränkte Zeit haltbar, wird daher am besten frisch bereitet und noch heiß dem gleichfalls heißen Agar zugesetzt. Nur dann bleibt das Gemisch völlig ungetrübt. Der Zusatz beträgt 5,0 ccm auf je 100,0 ccm Agar, so daß also eine Konzentration von 1 : 1000 resultiert.

3. Aufschwemmung von roten Blutkörperchen in Bouillon. Steriles defibriniertes Menschen- oder Kaninchenblut wird zentrifugiert, das überstehende Serum abpipettiert und durch Bouillon bis zum ursprünglichen Volumen ersetzt, da Serum „bekanntermaßen“ die Wirkung des Oleates aufhebt. Von dieser Aufschwemmung wird je 1,0 ccm auf 100,0 ccm des Oleatagars, und zwar wieder solange der Agar noch heiß ist, und kurz vor Gebrauch gegeben, umgeschüttelt und in Platten ausgegossen.

Also das Rezept heißt:

2proz. Nähragar	94,0 ccm	heiß gemischt.
2proz. Natriumoleatlösung . .	5,0 ccm	
Blutkörperchenaufschwemmung	1,0 ccm	

Avery verlangt 48stündige Bebrütung der Platten.

Auch hier läßt sich nach demselben Rezept eine Oleathämoglobinbouillon herstellen.

Da die bemerkenswerte und frappante Elektivwirkung des *Avery*-Agars interessant genug erschien, hat der eine von uns (*F.*) den Desinfektionseffekt des Natriumoleats auf Staphylokokken, Streptokokken,

[1]) *O. T. Avery* (New York), A selective medium for B. Influenzae. Oleate-hemoglobin agar. Journ. of the Americ. med. assoc. **71**, 2050. 1918.



Pneumokokken und Influenzabacillen ohne und in Gegenwart von verschiedenen Mengen Serum in vitro geprüft.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt:

Es wurden zwei Reihen von Reagensröhrchen mit optimalen flüssigen Nährböden angesetzt und beiden Reihen Natriumoleat in fallenden Mengen hinzugefügt, so daß das Desinfektionsmittel in den Lösungen in Konzentrationen von 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 4000 und 1 : 8000 enthalten war; außerdem kam zu jeder Reihe noch ein Kontrollröhrchen; der zweiten Reihe wurde außer dem Natriumoleat noch Rinderserum zugesetzt in der Menge von 10%. Nur im ersten Versuch mit Staphylokokken wurden drei Reihen angesetzt, deren erste kein Serum, die zweite einen Zusatz von 50%, die dritte von 25% Serum enthielt. Alle Versuche wurden in einer Gesamtmenge von 2 ccm angesetzt.

Um eine möglichst gleiche Einsaat von Keimen in jedes Röhrchen zu gewährleisten, wurden die Kulturen nicht ösenweise, sondern als dichte Aufschwemmung in NaCl-Lösung in Menge von je einem Tropfen zugesetzt; die Aufschwemmung wurde von 24stündigen auf optimalen Nährböden gezüchteten Kulturen unmittelbar vor der Einsaat hergestellt. Vor der Hinzufügung der Bakterien kamen die Röhrchen zur Sicherstellung der Sterilität auf $^1/_2$ Stunde ins Wasserbad von 58—60° C.

Als Nährflüssigkeit verwandten wir für den Staphylokokkenversuch gewöhnliche Bouillon, für den Streptokokken- und Pneumokokkenversuch 2—3 proz. Traubenzuckerbouillon und für den Versuch mit Influenzabacillen Influenzabouillon.

Um die Desinfektionswirkung des Oleates einerseits, die hemmende Wirkung des Serums andererseits nachzuweisen, wurden in der üblichen Weise Abimpfungen auf Platten vorgenommen, und zwar nach 15 Minuten, $^1/_2$ Stunde, 1, 2, 4 und 24 Stunden.

Bei der geringen bzw. völlig fehlenden Wirkung auf Influenzabacillen und Staphylokokken wurden für diese Bakterien noch ergänzende Versuche mit den Konzentrationen 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 400 angestellt bei sonst gleichen Versuchsbedingungen, sowie Abtötungsversuche in physiologischer NaCl-Lösung mit Zusatz von 2% Natriumoleat.

Die Resultate der Versuche sind kurz zusammengefaßt folgende:

Staphylokokken werden in Nährmedien selbst in Konzentrationen von 1 : 100 absolut nicht beeinflußt, in NaCl-Lösung sterben sie bei Zusatz von 2% Natriumoleat schneller ab als ohne diesen, und zwar so, daß nach 1 Stunde beginnende Verminderung der Keime gegenüber der Kontrolle zu beobachten ist, nach 24 Stunden eine völlige Abtötung erfolgt, während in der Kontrolle die Keime nur auf die Hälfte vermindert sind.



Die Wirkung auf Pneumokokken ist am stärksten ausgeprägt. In der Verdünnung 1 : 500 tritt eine fast augenblickliche Verminderung der Keime ein, nach 30 Minuten völlige Abtötung, nach 1 Stunde erreicht die Konzentration 1 : 1000, nach 2 Stunden 1 : 4000 die gleiche sterilisierende Wirkung.

Hämolytische Streptokokken werden langsamer gehemmt bzw. abgetötet, bei ihnen wird völlige Abtötung in der Verdünnung 1 : 500 erst nach 1 Stunde, bei 1 : 1000 erst nach 2 Stunden erreicht, nach 24 Stunden jedoch wie bei Pneumokokken noch in der Verdünnung 1 : 8000.

Bei der Prüfung gegenüber Influenzabacillen wurden zwei Stämme benutzt, ein seit vielen Monaten fortgezüchteter polyvalenter Stamm (77) und ein frisch isolierter aus einem Tbc-Sputum. Während dieser letztere auf dem Averyagar typisch gedieh, ging der Stamm 77 nicht an, wie uns auch früher schon gelegentlich für einzelne Influenzastämme der Oleatnährboden versagt hatte (s. unten!). Trotzdem zeigten beide Stämme keine oder kaum eine Beeinflussung durch das Mittel.

Die Konzentration von 1 : 1000 erwies sich als völlig, die von 1 : 500 als fast wirkungslos, eine Verdünnung von 1 : 100 ergab nach 30 Minuten völlige Sterilisation.

In allen diesen Versuchen hob der 10 proz. Zusatz von Rinder-, in einigen Versuchen Menschenserum die Wirkung des oleinsauren Natriums völlig auf.

Bei der großen Differenz der von uns gewählten Serumkonzentration und der im *Avery*-Nährboden bei einem Blutzusatz von 1% tatsächlich vorhandenen stand noch die Feststellung der eben auf Natriumoleat hemmend wirkenden Serummenge aus. Diese wurde in zwei weiteren Versuchen gegenüber Streptokokken und Pneumokokken ausgewertet.

Es wurde einer in allen Röhrchen gleichen und durch die obengeschilderten Versuche als sicher wirksam festgestellten Konzentration des Natriumoleats von 1 : 500 Serum zu 10, 5, 1, 0,5 und 0,1% zugesetzt, dazu drei Kontrollen:

1. Die Bakterien in reiner 2—3 proz. Traubenzuckerbouillon;

2. in Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 10% Rinderserum, um die Wirkung des Serums als wachstumfördernden Faktors auszuschließen; und

3. Traubenzuckerbouillon ohne Serum mit Zusatz von Natriumoleat, in der Konzentration von 1 : 500.

Während nun Kontrolle 3 bei Streptokokken bereits nach 15 Minuten starke Verminderung, nach 1 Stunde völlige Abtötung zeigte und bei Pneumokokken bereits nach 15 Minuten völlige Sterilisation erreicht



wurde, hemmte die Serumbeigabe derart gering, daß die Einwirkung des Desinfektionsmittels noch bei 1,0% Serum nach 30 Minuten bis 1 Stunde eintrat. Nach 2 Stunden zeigten nur noch 5% Serum hemmende Wirkung, nach 24 Stunden bestand diese auch bei 10% Serum nicht mehr.

Bei dem gleichen Versuch mit Pneumokokken war ein Serumzusatz bis 5% von gar keiner, von 10% nur von geringer hemmender Wirkung auf das Desinfiziens.

Aus diesen Versuchen geht hervor: Natriumoleat ist für *Pneumokokken* ein gutes Abtötungsmittel in Konzentrationen von 1 : 1000 bis 1 : 4000; die Verdünnung 1 : 500 tötet sie fast sofort. Etwas schwächer ist die Wirkung auf *Streptokokken*, die durch die Verdünnung 1 : 500 erst nach 1 Stunde, durch 1 : 1000 erst nach 2 Stunden, 1 : 2000 und darunter erst nach 24 Stunden abgetötet werden. *Influenzabacillen* dagegen bleiben durch das Mittel in einer Verdünnung von 1 : 1000 völlig, durch 1 : 500 fast völlig unbeeinflußt und werden erst durch eine Konzentration von 1 : 100 in $^1/_2$ Stunde abgetötet. Den *Staphylokokken* schadet nicht einmal diese hohe Konzentration innerhalb von 24 Stunden. So ist in der Tat die von *Avery* vorgeschriebene Konzentration von 1 : 1000 das Optimum für die gewünschte Elektivwirkung des Nährbodens. Dagegen müßte der Ersatz des Serums in dem 1 proz. Blutzusatz durch Bouillon unnötig sein, da nach den Reagensglasversuchen bei Streptokokken ein Serumzusatz bis zu 1%, bei Pneumokokken sogar bis zu 5% die Oleatwirkung unbeeinträchtigt läßt.

Und diesem Resultat entspricht die Prüfung eines mit Vollblut hergestellten Oleathämoglobinagars vollkommen. Influenzabacillen und Staphylokokken wachsen ungehemmt, Pneumokokken und Streptokokken werden in gleicher Weise wie auf dem nach *Averys* Originalvorschrift angefertigten Agar völlig unterdrückt. Der Ersatz des Serums durch Bouillon erweist sich demnach auch durch den Plattenversuch mit Vollblutoleatagar als überflüssig.

Es blieb noch übrig, neben den von dem amerikanischen Autor vorgeschriebenen Blutarten einige andere auf ihre Verwendbarkeit zu Oleatagar zu untersuchen. So wurde mit Kaninchenblut noch Ziegen- und Pferdeblut als die in Laboratorien beliebtesten Hämoglobinspender verglichen, und zwar wieder einmal unter Ersatz des Serums durch Bouillon nach der Originalvorschrift, und daneben als Vollblut zugesetzt.

Während auch hier wie für die gewöhnliche Blutmischplatte das Ziegenblut sich als völlig unbrauchbar erwies, da die hämoglobinophilen Bacillen kaum oder gar nicht angingen, übertraf der Pferdeblutagar noch den mit Kaninchenblut hergestellten im Wachstum der Influenzabacillen, besonders bei Verwendung von Vollblut, da hier

bei völliger Hemmung von Pneumokokken und Streptokokken — übrigens auch Meningokokken — die Influenzabacillen, einschließlich des auf der Original-*Avery*-Platte nicht wachsenden Stammes 77, üppig gediehen.

Danach wäre die Vorschrift *Averys* zu ergänzen: Als Blutspender eignet sich neben dem Kaninchen mindestens gleich gut das Pferd, und zu empfehlen ist die Verwendung von defibriniertem Vollblut — also ohne den umständlichen und überflüssigen Ersatz des Serums durch Bouillon — in der Menge von 1%.

Die Vorzüge dieses Oleathämoglobinagars bestehen in ungeheurer Erleichterung des Nachweises von Influenzabacillen, deren wichtigste Konkurrenten auf der Kulturplatte völlig unterdrückt bleiben. Diese Vorzüge stecken aber auch die Grenzen seiner Verwendbarkeit ab. Wo die Untersuchung ausschließlich auf den Nachweis der hämoglobinophilen Bakterien abgestellt ist, feiert der Nährboden seine Triumphe. Wo aber der Untersucher mit seinen bakteriologischen Studien an Sputum oder Sektionsmaterial analytisch ein *Gesamtbild* der Flora mit ihren quantitativen Beziehungen, differenziert in Hauptbakterien und Begleitkeime, gewinnen will, wie wir es uns zum Prinzip gemacht haben, ist er fehl am Ort. Wir haben in einer größeren Versuchsreihe parallel am gleichen Material Kochblutagar und Oleathämoglobinagar geprüft und die Gleichwertigkeit beider Nährböden festgestellt; fast immer führten beide Platten zu den gleichen positiven oder negativen Resultaten; nur ausnahmsweise versagte einmal die eine, einmal die andere gegenüber dem positiven Rivalen. Doch fanden wir, wie erwähnt, mehrmals Stämme, und besitzen auch zur Zeit in unserer Sammlung den besonders gut agglutinierenden Widalteststamm 77, die auch bei großer Aussaat von Reinkultur auf der *Avery*-Platte fast völlig gehemmt bleiben; solche Beobachtungen sind ein Gegenstück zu Befunden von Choleravibrionenstämmen, die auf Dieudonné-Agar nicht wachsen, wie während des Krieges auch im Institut gelegentlich festgestellt wurde. Noch in zwei Punkten fällt der Vergleich der beiden Spezialnährböden zuungunsten des Oleatagars aus; während sich in der obengeschilderten Weise von Kochblutagar Vorräte für viele Wochen, ja für Monate ohne Beeinträchtigung der Qualität herstellen lassen, kann der Oleatagar, der immer gleich fertig ausgegossen werden muß, nur in kleinsten Mengen vorrätig gehalten werden, um den schädigenden Einfluß der Austrocknung zu vermeiden. Dazu stört vom zweiten Tage an ein fettiger, in grauen Flecken auf der Oberfläche sich bildender Belag, offenbar von Oleat, der bei der Aussaat von der Öse zu einem schmierigen, oft recht erheblichen Haufen zusammengekehrt wird. Und zweitens ist die Kultur der hämoglobinophilen Stäbchen auf dem *Avery*-Agar mehr oder weniger stark schleimig,



eine Verreibung zur Herstellung homogener Kochsalzaufschwemmungen daher unmöglich. Das mikroskopische Bild der echten Influenzabacillen ist in diesen schleimigen Kolonien stets nicht unerheblich gröber und pleomorpher als auf Kochblutagar.

Freilich werden für die Aussaatplatte bei der primären Züchtung aus Untersuchungsmaterial alle diese Nachteile und Mängel hinter der frappanten Elektivwirkung, die besonders dem Ungeübteren den Nachweis der gesuchten Mikroben erheblich erleichtert, zurückstehen dürfen.

Der dritte der modernen Influenzanährböden ist das von den Amerikanern zur Fortzüchtung der Reinkultur viel verwandte „*Chocolate-blood*"-Medium: Agar oder Bouillon von p_H 7,4—7,6, mit defibriniertem Pferde- oder Kaninchenblut wie üblich versetzt, wird im Wasserbad kurze Zeit auf 70° C erhitzt, bis Farbumschlag in Schokoladenbraun erreicht ist, und ausgegossen. Auch dieser *Schokoladenblutagar* gibt prachtvoll üppige Ausbeute der Kulturen, als Nachteil erscheint uns einmal wieder die Unmöglichkeit, Vorräte zu halten, und zweitens die Undurchsichtigkeit. Diesen Mißstand zu bessern, haben wir das Blut vor dem Zusatz zum Agar durch destilliertes Wasser lysiert, doch kann auch so der Nährboden an Klarheit nicht mit filtriertem Kochblutagar konkurrieren.

Es ist begreiflich, daß das Phänomen der Hämophilie die Forschung stets von neuem anzieht. So haben auch in den letzten Jahren Untersucher das Problem von verschiedenen Seiten in Angriff genommen. Zwar konnten, wie zu erwarten, die Angaben *Tocunagas*[1]), das für hämoglobinophile Bakterien notwendige Nährsubstrat des Blutes stecke nicht im eisenhaltigen Hämatin, sondern in der eisenfreien Eiweißkomponente, dem Globin, von *Jacoby* und *Frankenthal*[2]) nicht bestätigt werden; doch fanden diese Autoren in gewissen Spaltprodukten des Hämoglobins, in Histidin und Leucin, Körper, die ein, wenn auch dürftiges, Wachstum von Influenzabacillen gestatten.

Erheblich weiter in der Erforschung des interessanten Problems sind amerikanische Untersucher unabhängig voneinander und gleichzeitig gekommen. Sie konnten zwei Substanzen nachweisen, die beide für sich allein Wachstum von Influenzabacillen nicht erlauben, deren gemeinsames Wirken jedoch üppiges Gedeihen zur Folge hat. *Davis*[3])

---

[1]) *H. Tocunaga* (Jamaguti, Japan), Über die Biologie der Influenzabacillen. Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 49.

[2]) *Martin Jacoby* und *Käte Frankenthal* (Berlin), Die Bedeutung der Hämoglobinaminosäuren für die Züchtung der Influenzabacillen. Biochem. Zeitschr. **122**, 100. 1921.

[3]) *David J. Davis* (Chicago), Food accessory factors in bacterial growth. III. Further observations on the growth of Pfeiffer's bacillus (B. influenzae). Journ. of inf. diseas. **29**, 171. 1921.

fand, daß kurzdauerndes Erhitzen von Blut auf 60—100° das dürftige Wachstum auf unerhitztem Blut verbessert, höhere Temperaturen des Autoklaven jedoch in kürzester Zeit die Wirksamkeit des Blutes restlos zerstören. So zerstörtes Blut kann aber durch völlig hämoglobinfreien Extrakt tierischer oder pflanzlicher Gewebe, Bakterien oder deren Filtrate, die für sich allein wirkungslos sind, vollständig restauriert werden. Autoklavieren solcher Extrakte wiederum hebt jede Wachstumsmöglichkeit von neuem auf. Er erschließt also aus diesen Versuchen erstens einen nur im Blut vorkommenden, thermostabilen Körper — vermutlich Hämatin —, und zweitens einen ebenfalls im Blut, aber auch in anderen blutfreien tierischen und pflanzlichen Zellen vorhandenen, thermolabileren, wasserlöslichen Körper von vitaminösen Eigenschaften. Und in dieser selben Substanz konnte *Davis*[1]) weiterhin den Träger jenes Phänomens, das in dem Auftreten von Riesenkolonien durch fördernde „Ammenbakterien" oder Zellextrakte als „Satellitismus" der Influenzabacillen seit langem bekannt ist, nachweisen.

Zu gleichen Ergebnissen wie *Davis* gelangten in mehreren Arbeiten *Thjötta* und *Avery*[2]). Die bedeutungsvolle Rolle vitaminähnlicher Substanzen aus gewissen Bakterien — Kapselbacillen und Proteus — hatte *Thjötta*[3]) schon in einer ersten Studie erkannt. Nun ließ sich die gleiche Substanz mit den auch von *Davis* festgestellten Merkmalen der Thermolabilität und Wasserlöslichkeit aus *Hefe* und anderen pflanzlichen und tierischen Geweben gewinnen. Die Autoren nennen diesen Körper V (von Vitamin). Stets aber ist seine Wirksamkeit, auch wenn er in großer Menge vorhanden ist, gebunden an gleichzeitige Anwesenheit einer zweiten Substanz X, die in roten Blutzellen und krystallinischem Hämoglobin hochkonzentriert steckt, thermostabil ist und noch in minimalsten Mengen (krystallinisches Hämoglobin 1 : 2 000 000) ausreicht. Die Autoren schreiben diesem Körper X daher katalytische Wirkung zu. Sie konnten ihn schließlich von allen untersuchten Eiweiß- und Lipoidsubstanzen nur noch in der *Kartoffel* auffinden und stellten fest, daß seiner Wirksamkeit stets die *Benzidinprobe* parallel geht. Diese Feststellung bezüglich der Benzidinprobe und eine ähnliche Anschauung über die Wirkungsweise eines so nachweisbaren, aus Blut stammenden, für Influenzabacillen unerläßlichen Substrates als Kataly-

[1]) *David J. Davis* (Chicago), IV. The „satellite" or symbiosis phenomenon of Pfeiffer's bacillus (B. influenzae). Ebenda, S. 178.

[2]) *Theodor Thjötta* and *O. T. Avery* (Rockef. Inst.), II. Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. Journ. of exp. med. **34**, 97. 1921. — Dieselben, III. Plant tissue, as a source of growth accessory substances, in the cultivation of bac. influenzae. Ebenda S. 455.

[3]) *Theodor Thjötta*, Studies on bacterial nutrition. I. Growth of bacillus influenzae in hemoglobin-free media. Ebenda **33**, 763. 1921.



sators findet sich schon bei *Olsen*[1]), den die amerikanischen Forscher zitieren.

Der Natur und Wirkungsweise des Körpers X werden weitere Studien gelten müssen.

Doch liegt bereits in den geschilderten Feststellungen die Erklärung für das Geheimnis des *Kochblutagars*; die Erhitzung des Blutes im Agar führt einerseits zur Abspaltung aus den roten Blutzellen und offenbar optimalen Lösung der Substanz X; fortgesetzte oder zu starke Erhitzung andererseits zerstört den vitaminösen Körper V. Nach den Untersuchungen von *Thjötta* und *Avery* müßte jedoch solch überhitzter Nährboden durch erneute Zufuhr von V, also etwa eines Hefenextraktes, vollständig wieder herzustellen sein.

Neben der Verwendung von Spezialnährböden kann für den kulturellen Nachweis der Influenzabacillen, vor allem aber für die bakteriologische Analyse der gesamten, für den einzelnen Krankheitsprozeß charakteristischen Flora Auswahl und Bearbeitung des Untersuchungsmaterials von entscheidender Bedeutung sein. Hat man bei Sektionen Organe oder Organteile mit ihren anatomischen Veränderungen selbst an der Hand, so wird Entzündungssekret, Eiter, Organsaft, Schleim ohne Verunreinigung von der Außenfläche her stets leicht mit der Platinöse zu entnehmen und direkt auszusäen sein. Wir verzichten ausnahmslos auf die Zuhilfenahme des Spatels und kommen immer mit einer hinreichenden Zahl ganz gleichmäßiger Striche zu restloser Aufspaltung des Bakteriengehaltes in isolierten Kolonien. Auswurf aber, der mit dem Schleim des Mundes oder mit Speichel vermengt ist, muß durch die klassische Waschmethode *Kochs* von allen Beimengungen befreit, gleichsam aufgeschlossen werden. Dabei hat es sich uns besonders bewährt, nach Abspülung in Kochsalzlösung die Sputumflocke noch in einer trocknen Schale auszubreiten und so bis zum innersten Kern, reinem Lungensputum, vorzudringen. Erst die sorgfältig ausgesuchte und so vorbehandelte eitrige Flocke, der Kern eines Sputumballens, kommt in der angegebenen Weise zur Aussaat.

Die *Hustenplatte*, deren Ausbeute an Kolonien im allgemeinen hinter der Erwartung zurückbleibt, muß daher mit einer ganzen Anzahl kräftiger Hustenstöße bei weit geöffnetem Munde in kleinstem Abstande von den Lippen beschickt werden. Die *Rachen*abstriche wurden fast ausnahmslos von uns selbst aus dem hinteren Nasenrachenraum der Untersuchungsperson entnommen; eine leicht gebogene große Öse wird hinter den weichen Gaumen über Vorder- und Hinterwand des Rhinopharynx geführt und der so gefaßte Schleim direkt ausgestrichen.

[1]) S. Fußnote 1 S. 473.



Die 24 Stunden bebrüteten Platten werden durch Identifizierung jeder Kolonieart restlos durchanalysiert, das numerische Verhältnis der einzelnen Bakterienarten zu einander durch 1—4 Kreuze festgelegt. Dabei verzichten wir prinzipiell auf die Anfertigung von Präparaten der Kolonien auf der Ausgangsplatte, sondern impfen stets erst auf Subkulturen, hauptsächlich Blutplatten und Influenzaagar, ab und mikroskopieren die gramgefärbten Reinkulturen. Für die makroskopisch influenzaverdächtigen Kolonien wird diese Abimpfung auf Kochblut- und gewöhnlichem Agar in abwechselnden Strichen mit dem gleichen Material zum Nachweis der obligaten Hämoglobinophilie vorgenommen; die Reinkultur wird mit Immunserum agglutiniert.

Die Methodik dieser *Agglutination* sowohl wie des *Widals* ist stets die folgende: Mit großer Öse wird möglichst viel Material von 24stündiger Plattenkultur abgenommen und „sorgfältigst an der Glaswand eines Kochsalzröhrchens, zuerst mit geringsten Flüssigkeitsmengen, dann unter vorsichtigstem allmählichen Abspülen verrieben" [*Levinthal*[1])], Die völlig homogene Suspension wird zu gleichen Teilen den jeweiligen Serumverdünnungen 2 : x zugesetzt, so daß die Verdünnung 1 : x resultiert. Alle Röhrchen kommen für 24 Stunden in den 37°-Schrank; am nächsten Tage wird die Sedimentation beobachtet und notiert, dann nach Aufschütteln mit schwacher Lupe die Zusammenballung abgelesen. Wenn auch im wesentlichen Sedimentation und Agglutination einander entsprechen, die erstere nur etwas weiter zu gehen pflegt, scheint uns doch die Agglutination einwandfreier und liegt unseren Angaben ausschließlich zugrunde.

III. Eigene Befunde von Influenzabacillen bei Nicht-Influenzakranken aus den Jahren 1919 bis 1922 in Berlin.

Fassen wir unsere oben mitgeteilten Untersuchungsergebnisse an Influenzakranken in einem Satz zusammen, so dürfen wir sagen: „Wo Influenza, da Influenzabacillen." Diese These ist die Umkehrung des Wortes *Wassermanns* aus dem Jahre 1893, „wo Influenzabacillen, da Influenza". Es ist seit langem bekannt, daß dieser Satz *Wassermanns* keine Gültigkeit mehr hat, nachdem bei einer ganzen Reihe von Krankheitsprozessen der Atemwege die *Pfeiffer*schen Stäbchen oft genug gefunden werden konnten. So kennen wir seit Jahrzehnten das Vorkommen des Mikroben bei Masern und Keuchhusten einerseits, bei Tuberkulose und ähnlichem andererseits. Die älteren Befunde bei akuten Infektionskrankheiten des Respirationstractus, besonders im Kindesalter, faßt folgender epidemiologischer Hinweis *Levinthals* (Referat; dort Literaturnachweis) zusammen: „Im Jahre 1900, *also zur Zeit einer pandemischen Influenzawelle*, fanden *Jochmann* und

[1]) S. Fußnote S. 459.



Krause, etwas später *Jochmann* und *Moltrecht*, in der Mehrzahl von Keuchhustenfällen ihren Bacillus pertussis Eppendorf, d. h. offenbar das *Pfeiffer*sche Stäbchen; im Jahre 1901 stellte *Süsswein* in fast 50% bei Masern Influenzabacillen fest; im selben Jahr fand *Jehle* bei Sektionen von Masern, Windpocken und Keuchhusten in fast 100%, bei Scharlach in ca. 45% Influenzabacillen. In den Jahren 1902 und 1903 beschrieb *Auerbach* von mehr als 700 Fällen auf den Tonsillen von Diphtherie- und Scharlachkranken Influenzabacillen in 5,4%. Dagegen im Jahre 1912 traf *Odaira* in Breslau im *Pfeiffer*schen Laboratorium die Influenzabacillen bei 42 Keuchhustenfällen nur noch 4 mal."

Und ganz ähnlich hat *Scheller* für das Auftreten von Influenzabacillen bei Tuberkulösen und Gesunden die Abhängigkeit von Grippeepidemien in seiner viel zitierten Statistik aus Königsberg aus dem Jahren 1906/07 bis 1908/09 nachgewiesen.

Auch in dieser Beziehung durfte eine weitere Aufklärung von der neuen Pandemie erhofft werden. Wir haben an einer ganzen Reihe von Krankheiten und an Gesunden seit 1919 das Vorkommen von Influenzabacillen und ihre Rolle im Organismus der Infizierten studiert und an diesem Material unsere morphologischen Feststellungen und Varietätsstudien machen können. Doch wird es hier unerläßlich sein, einige Arbeiten anderer Untersucher mit heranzuziehen, wobei wir uns auf die erfahrensten Kenner der Materie, die mit einwandfreien Methoden gearbeitet haben, beschränken.

Aus dem Beginn der Pandemie besitzen wir das Zeugnis *Uhlenhuths*[1]), der ja positive Befunde bei Influenzakranken als einer der ersten gemeldet hat; er fand die Bacillen in Rachenabstrichen bei 100 gesunden Soldaten nicht ein einziges Mal. Gleichfalls aus dem Jahre 1918 stammt die Untersuchung von *Neufeld* und *Papamarku*[2]), die in Tonsillenabstrichen von 25 gesunden Institutsangehörigen die Stäbchen in spärlicher Menge immerhin in 2 Fällen (von denen der eine unmittelbar neben einem an typischer Grippe Erkrankten arbeitete) fanden.

Pfeiffer selbst hat mit *Loewenhardt*[3]) festgestellt, daß von 61 Gesunden nur die Rachenabstriche von zwei Personen Grippestäbchen aufwiesen, die beide am nächsten Tage an typischer Influenza erkrankten. Seitdem ist *Pfeiffer*, wie er in seiner letzten Publikation[4]) mitteilt, mit seinen Mitarbeitern *Loewenhardt*, später *Preuss*, der Verbreitung der Influenzabacillen bei Nichtgrippekranken unablässig nachgegangen und hat seine Aufmerksamkeit besonders auf Tuberku-

[1]) *Uhlenhuth* (Straßburg, Elsaß), Zur Bakteriologie der Influenza 1918. Med. Klinik 1918, Nr. 32.

[2]) S. Fußnote 3a) S. 456.

[3]) S. Fußnote S. 470.

[4]) *R. Pfeiffer* (Breslau), Das Influenzaproblem. Weichardts Ergebn. d. Hyg., Bakteriol., Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **5**, 1. 1922.



losen und andere Erkrankungen des Respirationstractus (Rachenabstriche und Sputum) gerichtet. Während in der Zeit der großen Epidemiewellen bis zum März 1919 Bacillenträger zu 26% festgestellt wurden, sank diese Zahl in der Zeit vom April 1919 bis März 1920 auf 7%. Die Untersuchung vom April 1920 bis zum März 1921, jener interepidemischen Periode also, die sich an die heftige Frühjahrseruption von 1920 anschloß, ergab diese Befunde: erstes Halbjahr bei 116 Personen 7% positive, bei 108 früher Grippekranken 15,7%; zweites Halbjahr: bei 42 Personen 0 positive, bei 60 früher Grippekranken 5%. Von Scharlachfällen verfügt *Pfeiffer* nur über ein kleines Material; bei 5 Kranken fand er niemals Influenzabacillen. Seine Masernfälle teilt er in zwei Gruppen; 24 Patienten eines Krankenhauses waren samt und sonders negativ, von 13 Masernkranken der Universitätsklinik wiesen 3 die Bacillen auf.

Das gleiche völlig negative Resultat bei 31 Scharlachkranken aus dem Sommer 1919, relativ grippefreier Zeit also, aber immerhin „im Streukegel der großen Epidemie", hatten bei Verwendung von Sputumaussaaten und Hustenplatten *Seligmann* und *Georg Wolff*[1]); auch 16 Gesunde waren bei ihnen in dieser Zeit ausnahmslos negativ, während ihre Ergebnisse bei Tuberkulose und Tuberkuloseverdacht, bei Diphtherie, Masern und Keuchhusten die folgenden waren:

Tuberkulose:	von 24	Fällen	3	positive	= 12,5% } 19,3%
Tuberkuloseverdacht:	„ 38	„	9	„	= 23,7% }
Diphtherie:	„ 21	„	2	„	= 9,5%
Masern:	„ 57	„	22	„	= 38,6%
Keuchhusten	„ 44	„	20	„	= 45,5%

Während also übereinstimmend von diesen Untersuchern bei Gesunden auch während der Epidemie Influenzabacillen nicht oder nur selten gefunden wurden, ist *Stillman* in New York mit seinen Mitarbeiterinnen zu ganz anderen Resultaten gelangt. Schon während der ersten Seuchenwellen des Jahres 1918 stellte er mit *Ida Pritchett*[2]) Parallelität zwischen dem Vorkommen von Influenzabacillen im Rachen gesunden Pflegepersonals und der Epidemiekurve fest; neben einer Ausbeute von *83* resp. *93*% bei 49 unkomplizierten resp. 43 bronchopneumonisch komplizierten Influenzen und *46*% bei 54 Rekonvaleszenten fanden die Autoren unter 177 Gesunden *42*% Bacillenträger. *Agnes Winchell* und *Stillman*[3]) konnten in Fortsetzung dieser Untersuchungen bei 150 gesunden Personen aus Laboratorium und Hospital des Rockefeller-Instituts in den Monaten November 1918 bis Mai 1919 Bacillenträger

[1]) *E. Seligmann* und *Georg Wolff* (Berlin), Influenzabacillen und Influenza. Berl. klin. Wochenschr. 1920, Nr. 29.

[2]) *Ida W. Pritchett* and *Ernest G. Stillman* (New York), The occurrence of bacillus influenzae in throats and salive. Journ. of exp. med. **29**, 259. 1919.

[3]) *Agnes, I. Winchell* and *E. G. Stillman*, The occurrence of bacillus influenzae in the normal throat. Ebenda **30**, 497. 1919.



in wechselnder Menge, von 11—43% im Monat, nachweisen, während Patienten mit akuten Krankheiten des Respirationstractus von Februar bis April zu 70% positiv waren. Selbst in einer Abteilung eines Mädchenpensionats mit 20 Insassinnen und in einem Waisenhause, die von der Epidemie verschont geblieben waren, trafen sie 25 resp. 39% Keimträger an. Die Autoren zitieren Untersuchungen an sämtlichen Gesunden des Camp Funston mit einer Ausbeute von 35,1%. Nach Fortführung dieser Studien blickt *Stillman*[1]) jetzt auf ein stattliches Material von 1077 gesunden Untersuchungspersonen mit *31*% Influenzabacillenträgern, ohne Berücksichtigung des Bacillus X (siehe unten), zurück, und zwar wurden gefunden:

im Winter	1918/19	unter	717	Gesunden	35%	Träger
„ „	1919/20	„	253	„	17%	„
„ „	1920/21	„	107	„	29%	„
Also insgesamt		„	1077	„	31%	„

Dieser Nachweis wurde stets im Rachenschleim geführt; Nasensekret dagegen war bei Gesunden frei von den Bacillen. Dagegen wurden bei 35 Lobärpneumonien Influenzabacillen nachgewiesen: im Rachen zu 58%, in der Nase zu 23%, in Rachen, Nase und Sputum zusammen in 85% der Fälle[2]).

Interessante Studien bei Kindern haben letzthin *Pilot* und *Pearlman*[3]) aus Chicago publiziert. Nach einem Hinweis auf *Martha Wollstein* und *Spence* (Americ. Journ. of dis. of childr. **19**, 459. 1920), die bei 266 gesunden Kleinkindern im Rachen *Pfeiffer*stäbchen zu 10% nachwiesen, teilen sie ihre Befunde im Rhinopharynx von 25 Kindern mit 40% positiver Ausbeute und an je 115 exstirpierten Rachenmandeln und Tonsillen mit:

Adenoide	40,9%,
Tonsillen	53,9%.

Auch wir sind seit Anfang 1919 der Verbreitung der Influenzabacillen bei Erkrankungen der Atemorgane und bei Gesunden nachgegangen. Und zwar verteilen sich unsere Untersuchungen der ver-

[1]) *Ernest G. Stillman,* The frequency of bacillus influenzae in the nose and throat in acute lobar pneumonia. Ebenda **35**, 7. 1922.

[2]) *Nachtrag bei der Korrektur:* Ganz ähnliche Werte teilt soeben *Scott*-London (Reports on publ. health a. med. subj. Nr. **13**, 76, 1922) mit, der durch Rachenabstriche unter 186 Gesunden aus dem November 1918, 19 und 20 etwa 40% und durch Nasenabstriche unter 120 gesunden Schulkindern im Januar 1922 etwa 36% Träger feststellte, während er 1920—21 im Sputum der Lunge bei Lopärpneumonie die Bacillen zu 60%, bei einfacher Bronchopneumonie und Bronchitis zu 88%, bei Influenza und Influenzapneumonie während der Januarepidemie von 1922 dagegen nur zu 65%, wie er selbst betont, aus technischen Gründen in zu geringer Ausbeute, nachwies.

[3]) *I. Pilot* and *S. J. Pearlman* (Chicago), Bacteriologic studies of the upper respiratory passages. III. The influenza bacilli (Pfeiffer) of the adenoids and tonsils. Journ. of inf. diseas. **29**, 55. 1921.



schiedenen Infektionskrankheiten folgendermaßen auf die einzelnen Perioden, wobei wieder unser Material größtenteils der Infektionsabteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses (*U. Friedemann*), ein kleiner Teil der Masernfälle und die 10 Kontrolluntersuchungen an Conjunctiven bei Kindern dem Kaiser und Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhaus (*Finkelstein*) entstammen; von Gesunden wurden dagegen fast ausschließlich Angehörige unseres Instituts oder daselbst tätige Kursisten herangezogen:

Masern: 1919 im ganzen 17 Fälle, darunter 3 Sektionen; 1920 nur 6 klinische Fälle und 1921 bis Ende Mai 6 Sektionen und 1 klinischer Fall.

Keuchhusten: 1919 im ganzen 12 Fälle, darunter 2 Sektionen; 1920 nur 7 klinische Fälle und 1921 bis Mitte März 7 Sektionen und 1 klinischer Fall.

Scharlach: 1919 nur 2 Fälle; dann erst Ende Mai bis Mitte Dezember 1921 18 klinische Fälle.

Diphtherie und diphtherieverdächtige Anginen: 1921 im März 1 Sektion; dann Juni bis Oktober 20 klinische Fälle.

Tuberkulose: 1919 im Mai 13 Fälle einer Tuberkulosestation und 1922 von derselben Station 12 Fälle.

Gesunde: 1921 Mai bis Juli 28 Fälle; im November Nachuntersuchung von 5 Personen der ersten Gruppe und im April 1922 wieder 6 Nachuntersuchungen.

Masern.

Die schon an anderer Stelle [*Levinthal*[1]), Referat] teilweise mitgeteilten Untersuchungen an Masernkranken wurden, soweit es sich um rein klinisches Material handelte, durch Hustenplatten, Ausstriche von den entzündeten Bindehäuten und vom Rachen, seltener an Sputumaussaaten, angestellt.

Die Beobachtungen des Jahres 1919 an klinischem Material verteilen sich über das ganze Jahr derart, daß ein Teil der Fälle zu Beginn, ein zweiter etwa um die Mitte, der dritte in den letzten Monaten untersucht wurde. Dabei zeigt sich, vom Beginn des Jahres bis zum Ende hin, ein stetiges Absinken der positiven Influenzabacillenbefunde. Von den 3 Sektionen im Dezember des Jahres, pneumonischen Komplikationen, zeigten 2 die Bacillen in den Lungen, 1 war negativ. Insgesamt waren von den 17 Fällen 8 positiv = 47,1%, von den 14 klinischen also positiv 6 = 42,9%.

Der positive Nachweis der Influenzabacillen wurde geführt:
von 13 Hustenplatten 6 mal,
von 14 Conjunctivalausstrichen 5 mal,
von 9 Rachenausstrichen 3 mal.

Die 6 klinischen Fälle des Jahres 1920 drücken mit 2 positiven Befunden den Prozentsatz auf 33,3 herab, und zwar war von 4 Fällen im Juli nur 1 positiv (Sputum), von 2 Fällen im Dezember zeigte nur

[1]) S. Fußnote 1 S. 457.



der eine ausschließlich auf einer Conjunctiva reichliche Influenzabacillen.

Während in diesem Jahre 1920 Sektionsmaterial nicht zur Verfügung stand, brachte uns April und Mai 1921 neben 1 klinischen Fall, der positiv war, 6 Obduktionen zur Untersuchung. In allen diesen Fällen handelte es sich um Bronchopneumonien, und das bakteriologische Ergebnis, das für die *Pfeiffer*stäbchen nur bei einer Sektion negativ war, zeigt in dem Influenzabacillus den gefährlichsten Infizienten bei Masern. Wir werden bei Keuchhusten ganz entsprechende Verhältnisse antreffen und müssen uns vorstellen, daß die Masern- und Keuchhusteninfektion in den Organen des Respirationstractus einen bedenklichen Locus minoris resistentiae für den zu Zeiten epidemischer Influenza weitest verbreiteten Grippebacillus setzt.

Die bakteriologische Analyse der 6 Masernsektionen gestattet ferner Feststellungen, die ihr Gegenstück bei der Influenza selbst finden. Die Untersuchung wurde nicht auf die erkrankten Lungen und Atemwege beschränkt, sondern umfaßte auch neben der Bronchialdrüse die Milz und das Knochenmark der oft rhachitischen Rippen, einige Male auch des Femur.

Wie in dem I.-B.-negativen Falle mit Ausnahme des sterilen Rippenmarks aus allen Organen hämolytische Streptokokken in mehr oder weniger großen Mengen zu züchten waren, erwies dieser Keim auch in der Mehrzahl der I.-B.-positiven Fälle seine beherrschende Rolle für den tödlichen Verlauf. In 3 von 5 Fällen wuchs er, in Milz und Knochenmark mehrmals rein, in ungeheuren Mengen aus allen Organen, während die Pneumokokken nur einmal zu einer Sepsis mit Infektion des Rippenmarkes geführt hatten. Dieser letzte Fall (K. 24) war 2 Monate vor der Maserninfektion als Keuchhustenpatient zur bakteriologischen Untersuchung gekommen, und schon damals waren die Influenzabacillen fast rein aus Sputum gewachsen. Dagegen zeigte eine gleiche Doppeluntersuchung eines anderen Masernsektionsfalles (K. 21) mit Reinkultur massenhafter hämolytischer Streptokokken in Milz und Knochenmark und Influenzabacillen neben den Streptokokken in Lungen und Trachea einen bemerkenswerten Gegensatz zu der Untersuchung während des Keuchhustens 3 Monate vorher. Damals waren im Sputum neben zahlreichen *Bordet*bacillen nur ein paar Influenzabacillen, aber vom Typ II, der Pseudoform, gewachsen. Offenbar haben diese sich während der Maserninfektion in den virulenten echten Typ reaktiviert.

Der I.-B.-Befund bei den 5 positiven Sektionen war:
in den Lungen positiv 5 mal, negativ — mal,
in Trachea oder Bronchien positiv 3 mal, negativ 2 mal,
in Bronchialdrüsen positiv — mal, negativ 5 mal,
in Milz positiv 1 mal, negativ 4 mal,
in Rippenmark positiv — mal, negativ 5 mal.



Das gesamte Ergebnis unseres Masernmaterials gibt *Tabelle X*.

Tabelle X.

Influenzabacillenbefunde bei *Masern* 1919 bis Mai 1921 in Berlin.

Jahr	Klinisch		Sektionen		Zusammen	
	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +
1919	14	6 = 42,9%	3	2	17	8 = 47,1%
1920	6	2	—	—	6	2 = 33,3%
1921	1	1	6	5	7	6 = 85,7%
1919—1921	21	9 = 42,9%	9	7 = 77,8%	*30*	*16 = 53,3%*

Als Kontrolluntersuchung wurden im Juli 1919 die *Conjunctiven* von 10 Kindern auf ihren Keimgehalt geprüft, und zwar bei 6 akuten Erkrankungen wie Angina, Pneumonie und Otitis media und 4 chronischen Prozessen wie Ascites, Nephritis und Lungentuberkulose. Nur bei einem Säugling mit Cystitis, abgeheilter Augendiphtherie und Otitis media fanden sich auf beiden Bindehäuten neben Pseudodiphtheriebacillen spärliche Mengen von Influenzabacillen.

Sonst wurden aus den Bindehäuten gezüchtet: Pneumokokken 5 mal, Katarrhalis 1 mal; frei von Krankheitserregern waren 3 Fälle.

Keuchhusten.

Hier wurde die Untersuchung der klinischen Fälle auf Sputum und Hustenplatte beschränkt.

Im Jahre 1919 kamen 12 Fälle zur Untersuchung, darunter 3 Sektionen, von denen die eine nur auf dem Obduktionstisch, die beiden anderen nach vorheriger klinischer Untersuchung studiert werden konnten. Von diesen wieder war ein Fall mit Masern akut kompliziert und zeigte eine Lobärpneumonie mit reichlichen Pneumokokkenmengen ohne Influenzabacillen und mit gleichfalls negativem *Bordet*befund. Der andere klinisch und bei der Sektion studierte Fall wies neben großen Mengen von *Bordet*bacillen, die schon im Sputum gefunden worden waren, in Lungen- und im Bronchialeiter nebeneinander, wie gleichfalls bereits im Auswurf, *echte* und *Pseudo*influenzabacillen auf. Der nur obduziert studierte Fall endlich, eine lobärpneumonische Komplikation, war für Influenzabacillen negativ, während bei steriler Milz aus Trachea und Lunge neben Pneumokokken die *Bordet*schen Keuchhustenbacillen stellenweise in Reinkultur gezüchtet wurden.

Von den 9 klinischen Fällen waren 3 influenzapositiv, zwei mit dem echten Typ übereinstimmend in Sputum und auf der Hustenplatte, der dritte nur im Sputum mit dem Pseudotyp.

So ergab das Jahr 1919 eine für Influenzabacillen positive Ausbeute von 33,3% bei 12 Fällen.



Im Jahre 1920 wurden nur klinisch im April 5 Kinder mit einem einzigen positiven Fall, im August zwei Geschwister, beide mit positivem Sputum, beobachtet.

Viel höher dagegen war die Ausbeute des Jahres 1921, in dem von Januar bis März 3 Fälle klinisch und 5 auf dem Sektionstisch studiert wurden. Von diesen letzteren war der eine klinisch negativ gewesen, die Sektion dagegen 18 Tage später, nachdem das Kind nach Windpocken mit einer Bronchopneumonie ad exitum gekommen war, ergab neben zahlreichen *Bordet*bacillen in den bronchopneumonischen Bezirken der Lungen vereinzelte Influenzabacillen; mischinfizierende hämolytische Streptokokken wuchsen aus Bronchialdrüsen und Milz in Reinkultur. Auch die anderen 4 Sektionsfälle waren positiv, und zwar wurden die Influenzabacillen gefunden: in den Lungen 4 mal, in der Trachea 2 mal, in der Bronchialdrüse 3 mal, in der Milz, die 3 mal steril war, 1 mal, im Rippenmark vereinzelt ebenfalls 1 mal. Auch die 3 klinischen Fälle waren, wenn auch zum Teil nur mit 1 bis 2 Kolonien, positiv; der eine dieser Fälle, der bereits bei der Besprechung der Masern Erwähnung fand, wies im Sputum einige Pseudoinfluenzabacillen auf, während drei Monate später nach einer Masernbronchopneumonie die Sektion den echten Typ finden ließ. Die im Sputum in großen Mengen gefundenen *Bordet*bacillen waren bei der Masernsektion, wie zu erwarten, verschwunden.

Das Ergebnis dieser 3 Jahre zeigt *Tabelle XI*.

Tab. XI. Influenzabacillenbefunde bei *Keuchhusten* 1919 bis März 1921 in Berlin.

Jahr	Klinisch		Sektionen		Zusammen	
	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +	Zahl	I.-B. +
1919	9 (2)	3 (1)	3	1	12	4 = 33,3%
1920	7	3	—	—	7	3 = 42,9%
1921	3 (1)	3 (—)	5	5	8	8 = 100,0%
1919—1921	19	9 = 47,4%	8	6 = 75%	*27*	*15 = 55,6%*

Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Untersuchung von Sektionsfällen vor dem Tode.

So läßt sich also eine mit den Grippeepidemiejahren immer steigende Mischinfektion der Keuchhustenkinder mit den *Pfeiffer*bacillen feststellen, eine Zunahme, die auch bei den Masern deutlich geworden war. Zusammen mit den oben aus der Literatur beigebrachten Ergebnissen der Keuchhustenforschung von 1900—1912 zeigt also auch das Studium dieser Kinderkrankheit die Abhängigkeit der Influenzabacillen-Mischinfektion von Grippeepidemien.

Gesunde.

Wenn hier die Schilderung unserer Untersuchungsergebnisse bei Gesunden der Besprechung der übrigen Infektionskrankheiten voran-



gestellt wird, so geschieht das nicht so sehr aus chronologischen Gründen, als weil an diesem Material zuerst das Studium der verschiedenen morphologischen Typen auf breitere Basis gestellt werden konnte. Die systematische Darstellung der vier Typen bleibe dem nächsten Kapitel vorbehalten; unerläßlich wird an dieser Stelle eine vorläufige ergänzende Besprechung der bereits mehrfach erwähnten morphologischen Differenzen an der Hand des Untersuchungsmaterials sein.

In der Zeit von Mitte Mai bis Ende Juli 1921 wurden 28 gesunde Angehörige des Instituts und Teilnehmer eines chemischen Kurses mittels Abstrichen aus dem hinteren Nasenrachenraum untersucht. Unter diesen waren nur 8 vollständig negativ. Die echten, fast ausnahmslos gut agglutinierenden Influenzabacillen wurden 7 mal gefunden, also zu 25%, und zwar überwiegend 3 mal, reichlich 3 mal, vereinzelt 1 mal. Dagegen konnte die Pseudoform nur 3 mal nachgewiesen werden, davon in einem Fall neben dem echten Typ. Die *Pseudoform* (*Typ II*) unterscheidet sich nur durch geringe Vergröberung der Stäbchen und mäßige Scheinfädenbildung auf der Blutplatte vom Typ I, wie oben schon geschildert. Ausnahmslos gelingt es in meist wenigen Generationen auf optimalen Nährböden den Typ II in die echte Grundform umzuzüchten. Diese Umzüchtung oder Zurückwandlung gelang uns aber in gleicher Weise bei der nächsten Stufe der offenbar im Organismus der Keimträger im Sinne einer Degeneration erfolgten Variierung; diese schon 1916—1917 von dem einen von uns [*Levinthal*[1])] beobachtete und abgebildete Form läßt die Merkmale der Pseudobacillen ins *Extreme*, gleichsam ins Groteske gesteigert erscheinen; aus dem kokkoiden Grundtyp sind ungeheuer pleomorphe Bacillen, aus den bescheidenen und zarten Scheinfäden phantastische Schleifen und Knäuel geworden. Stämme dieser Art sind wesentlich hinfälliger als die echten Kulturen, ihre Fortzüchtung verlangt daher häufige Abimpfung. Die Schilderung dieser *extremen* Pseudoform, des *Typs III*, bleibe hier auf diese Andeutungen beschränkt. Unter unsern 28 Fällen zeigten nicht weniger als 7 Personen diesen Typ III, und wieder 1 Person gleichzeitig neben dem Typ II.

Die geschilderten 3 Typen haben alle miteinander die wichtigsten kulturellen Merkmale auf den Nährböden gemeinsam (s. unten). Dagegen unterscheidet den *Typ IV* von allen anderen die Fähigkeit, Blutmischplatten zu hämolysieren. Das mikroskopische Bild dieser hämolytischen Variante entspricht etwa dem der extremen Pseudoform. Auch hier muß die detaillierte Beschreibung dem systematischen nächsten Kapitel vorbehalten bleiben. Diese merkwürdigen Bacillen sind zum erstenmal im Jahre 1918 von *Pritchett* und *Stillman*[2]) eben-

[1]) Siehe Fußnote S. 459.
[2]) Siehe Fußnote 2 S. 485.



falls aus dem Rachen Gesunder während der Grippeepidemie in New York gezüchtet und als *Bacillus X* bezeichnet worden. Wir fanden diesen Typ bei unseren Untersuchungspersonen 6 mal, wieder 1 mal in Kombination mit echten Grippestäbchen.

Die Gesamtausbeute gibt *Tabelle XII* wieder.

Tabelle XII.

Influenzabacillenbefunde aus dem Rachen *Gesunder* im Sommer 1921 in Berlin.

Befund	Typ	Anzahl			
Echte I.-B.	= Typ I	7 = 25%	*9 = 32,1%*	15 = 53,6%	*20 = 71,4%*
Pseudo-I.-B.	= „ II	3 = 10,7%			
Extreme Pseudo-I.-B.	= „ III	7 = 25%			
Bacillus X	= „ IV	6 = 21,4%			
Negativ.		8 = 28,6%			
	Summe	28 Fälle.			

Die interessanten Beziehungen dieser vier Typen zueinander und zu Grippeanfällen werden am klarsten, verfolgt man einige der untersuchten Fälle längere Perioden hindurch.

Frl. *B. K.*, bei der am 9. V. 1921 die *echten* Influenzabacillen in mäßiger Menge im Rachen gefunden wurden, hatte etwa 2 Monate vorher eine 14 tägige Grippe ohne Husten durchgemacht. Sie wäre also nicht als Keimträgerin, sondern als Dauerausscheiderin anzusehen. Eine Nachuntersuchung im November erwies sie frei von den Mikroben. Im Februar—März 1922 erkrankte sie auf einer Reise wiederum an leichtem Fieber, Conjunctivitis und heftigem Husten mit eitrigem Auswurf. Nach ihrer Rückkehr fanden sich am 20. IV. die Grippestäbchen des Typus I wieder in großen Mengen im Rachen.

Der eine von uns (*H. F.*) wies im Mai 1921 neben Pneumokokken, Streptokokken und Meningokokken in reichlicher Zahl den *Bacillus X*, unsern Typ IV, auf. F. hat nie Grippe gehabt, leidet aber den ganzen Winter hindurch an Katarrhen mit Husten. Die Nachuntersuchung im November, bei der wieder die Meningokokken gefunden wurden, zeigte nichts mehr vom Typ IV, an dessen Stelle nun *echte* und *Pseudoinfluenza*bacillen in Symbiose wuchsen. Schon von der dritten Subkultur an erschienen auch die Pseudostäbchen in der echten Form. Und dieser Typ I war auch neuerdings im April 1922 wieder, diesmal aber neben dem Typ IV, zu finden. Auch jetzt, also fast 1 Jahr hindurch konstant, wuchsen *Meningokokken* in mäßiger Menge[1]).

[1]) Befunde von Meningokokken im Rachen Gesunder können nach neueren Untersuchungen, besonders von englischen Autoren (*Gordon*), nicht mehr als ungewöhnlich bezeichnet werden. Die Identität dieser saprophytischen Rachenbewohner mit den Erregern der epidemischen Meningitis wurde von den genannten Beobachtern und in einem Teil unserer Fälle nicht nur durch kulturelle und morphologische, sondern auch durch serologische Untersuchungen erwiesen.

Hier hatte also eine dreimalige Untersuchung in Abständen von etwa 6 Monaten drei verschiedene Typen der *Pfeiffer*schen Stäbchen, zum Teil in Kombination miteinander, nachweisen lassen, ohne daß ausgesprochen grippöse Krankheitserscheinungen aufgetreten waren. Doch fiel der erstmalige Nachweis des echten Typs im November gerade in die Zeit der wieder aufflackernden Seuche.

Der andere von uns (*W. L.*) hatte bereits im November 1916 in Gent eine heftige, aber kurz dauernde Influenza mit positivem Bacillenbefund durchgemacht. Wie bereits damals mitgeteilt [*Levinthal*[1])], fanden sich bei andauernder eitriger Bronchitis die Erreger noch im April 1917 fast in Reinkultur, während spätere Nachuntersuchungen dann negativen Befund ergaben. Der Widal war in jenem Winter bis 1 : 200 positiv. Als nun im Sommer 1917 nach einer zweitägigen Erkältung bei stärkerer Bronchitis das wieder eitrig gewordene Sputum erneuter Untersuchung unterzogen wurde, konnte mehrmals ein merkwürdig labiler Stamm gezüchtet werden, der vom Habitus des Typs I bis zum Typ III auf den Platten variierte. Schon damals wurde der Eindruck gewonnen und ausgesprochen, daß es sich hier nicht so sehr um Einflüsse des Nährbodens handle, als um „Eigentümlichkeiten der Stämme selbst, die ja im lebenden Organismus in weiten Grenzen wechselnden Lebensbedingungen unterworfen und angepaßt sein werden".

Auch von L. wurde nun im Mai 1921 bei völligem Wohlbefinden, und ohne daß seit 1916—1917 wieder Grippeerscheinungen aufgetreten waren, ein Rachenabstrich untersucht. Neben Pneumokokken, Streptokokken und einer Unmenge Meningokokken wuchsen reichliche Mengen von Influenzabacillen der *extremen* Pseudoform, des Typs III. Am 3. XII. erkrankte L. nachts mit heftigen Rachenschmerzen, Tracheitis und Bronchitis an einem ganz kurzen Fieberanfall, bei dem das eitrig-schleimige Sputum neben einer Unmasse von Pneumokokken, die das direkte Ausstrichpräparat dicht bedeckten, den *hämolytischen* Typ IV aufwies. Bei einem leichten Rückfall im Januar 1922 war der wiederum eitrig gewordene Auswurf zwar frei von Influenzabacillen und enthielt nur zahllose Pneumokokken in Reinkultur, im Rachen aber fanden sich neben diesen immer noch die *X-Bacillen* in großer Menge. Dagegen wuchsen im April dieses Jahres, also $3^1/_2$ Monate nach der letzten Untersuchung, neben Meningokokken geringe Mengen *echter Pfeiffer*-stäbchen aus dem Rachenabstrich, während der Typ IV nicht mehr nachweisbar war.

Der Wechsel der Flora in diesem Fall läßt sich etwa auf folgende Formel bringen: Nach einer akuten Influenza mit positivem Bacillen-

[1]) S. Fußnote S. 459.



befund (Typ I) und kräftiger Widalreaktion siedeln sich die Mikroben auf den chronisch entzündeten, durch starkes Rauchen gereizten Schleimhäuten der Atemwege an; unter dem Einfluß des Milieus variieren sie durch die ganze Skala der verschiedenen Typen, ohne daß der immun gewordene Organismus auch bei gelegentlichem Rückschlag in die wohl ausschließlich virulente Grundform erkrankt. So dürften auch die Anfälle im Dezember und Januar wohl in erster Linie auf die Pneumokokken als Erreger zu beziehen sein.

Ganz ähnliche Verhältnisse zeigte Frl. *L. K.* Auch hier berichtet die Anamnese von einem schweren Influenzaanfall, kompliziert durch Pneumonie, während der Frühjahrsepidemie von 1920. Auch hier schloß sich an die akute Erkrankung eine chronische Bronchitis mit häufigen fieberhaften Exacerbationen. Auch hier ergab die Untersuchung des Rachens im Mai 1921 zu relativ beschwerdefreier Zeit *extreme* Pseudoformen von *Pfeiffer*bacillen in reichlicher Menge, während im Januar 1922 bei heftiger Bronchitis die *hämolytischen X*-Bacillen in großer Menge, im April bei Wohlbefinden in wenigen Kolonien gefunden wurden.

Noch konstanteren Befund dieser *X-Bacillen* bei wechselnder Kombination mit anderen Typen weist Dr. *K. W.* auf, bei dem im Juli 1921 aus dem Rachen der Typ IV neben Pneumokokken in großer Menge gezüchtet wurde. W. hat mehrfach Grippeanfälle, so den ersten im Sommer 1918, einen zweiten im Winter 1918—1919 durchgemacht. Auch er leidet seitdem an häufigen fieberhaften Bronchitiden, deren letzte mit Temperaturen bis 40°, aber kurzdauernd, der Untersuchung 2—3 Wochen vorausgegangen war. Die Nachuntersuchung im November ergab neben zahlreichen *X-Bacillen* große Mengen eines Typs, der etwa zwischen dem Typ I und II in der Mitte steht. Die Stäbchen sind gröber und pleomorpher als bei der echten Form, aber Scheinfäden fehlen. Im Januar 1922 dagegen wurden neben dem hämolytischen Typ IV *echte* kokkoide Influenzabacillen nachgewiesen, ein Befund, der wohl mit der damals heftig wütenden Grippe und mit Erkrankungen in der allernächsten Umgebung des selbst gesund bleibenden Dr. *W.* zu erklären ist. Im April waren diese echten Formen wieder völlig verschwunden und hatten den X-Bacillen die Alleinherrschaft überlassen.

Und schließlich gehören hierher 2 Fälle aus unserer Umgebung, bei denen die Untersuchung im Juni und Juli 1921 zu Zeiten völligen Wohlbefindens negativ ausfiel, obwohl der eine (Dr. *G. Bl.*) 14 Tage vorher während der Behandlung eines Grippekranken selbst ohne katarrhalische Symptome mit Kopfschmerz und Mattigkeit unpäßlich gewesen war. Ende Dezember, zur Zeit der neuen Influenzaepidemie, erkrankte nun der andere Fall (Frl. *G. L.*) mit leichten aber typischen

Grippebeschwerden, und in der Tat wuchsen auf Hustenplatten übereinstimmend bei wiederholter Untersuchung *echte* Influenzabacillen. Im April dagegen wuchsen aus dem Rachenabstrich große Mengen von *X-Bacillen* neben einer *einzigen* Kolonie des echten Typs I. Auch Dr. *Bl.* wurde, und zwar Anfang April, trotz wiederholter leichter Grippeanfälle in den Jahren 1918 und 1919, erneut ein Opfer der Seuche mit Fieber, Reizerscheinungen im Halse, Mattigkeit, und zeigte im Rachen nebeneinander den Typ I und den extremen Pseudotyp III, welch letzterer auf der Hustenplatte allein wuchs. Dieser extreme Pseudobacillus (13/22 E), den die Photogramme Nr. 4—6 in den verschiedenen Stadien seiner Umzüchtung zeigen, konnte in wenigen Generationen auf Kochblutschrägröhrchen zu der echten Form umgewandelt werden, wie wir später sehen werden.

Die Schilderung dieser Einzelbeispiele aus unserem Untersuchungsmaterial bei Gesunden mußte etwas breiter sein, da nur so ein Bild von dem Wechsel der verschiedenen Typen und ihrer Beziehung zum Organismus des Trägers zu geben war. Dem Beobachter dieses anfangs überraschenden und doch immer wieder charakteristisch feststellbaren Szenenwechsels drängt sich der Vergleich mit den Diphtheriebacillen, ihrer Umwandlung in Diphtheroide bei gelegentlichem Rückschlag in die pathogene Urform auf.

Scharlach.

Während im Jahre 1919 nur zwei Scharlachkranke, ein 18jähriges Mädchen im Januar, ein 15jähriger Bursche im Juli, untersucht wurden, beide mit negativem Influenzabacillenbefund im Rachen, resp. Rachen, Bindehäuten und Hustenplatte, steht uns aus dem Jahre 1921 größeres Material, nämlich 18 Fälle aus der Zeit von Mitte Mai bis Mitte Dezember, zur Verfügung. Bei sämtlichen dieser Kranken wurden Hustenplatten und — bis auf einen — Rachenausstriche angelegt, Sputum kam nur bei fünf Patienten zur Verarbeitung, die übrigen 13 warfen nicht aus. Der Entnahmetag war in der Mehrzahl der Fälle der dritte Krankheitstag, bei einzelnen Kranken wurde erst später bis zum sechsten Krankheitstag untersucht.

Wie bereits bei den Gesunden und überhaupt bei all unseren Untersuchungen von 1921 ab richteten wir unser Hauptaugenmerk auf die Unterscheidung und das eingehende Studium der obenerwähnten verschiedenen Typen.

Bei den 18 Scharlachfällen fanden wir den echten Typ I des Influenzabacillus zweimal, in zwei weiteren Fällen etwas zu dem Typ II hinneigende, aber doch dem Typ I näherstehende Formen. Einer von diesen vier Kranken bot am Entnahmetag, dem fünften Krankheitstage, das Bild einer voll entwickelten Bronchitis dar; auf der Hustenplatte, im Rachenausstrich und im Sputum wurden überwiegend echte



Influenzabacillen des Typs I gefunden, neben denen, vielleicht mit Ausnahme der Streptokokken, alle anderen Keime bei weitem zurücktraten. — Das direkte Sputumpräparat war mit Influenzabacillen übersät, die zu einem beträchtlichen Teil von den zahlreichen Leukocyten phagocytiert waren. Der II. Typ, der Pseudoinfluenzabacillus, wurde fünfmal, der III. und IV. je einmal gefunden, letzterer bei einem 16jährigen Mädchen (Sc. 10), das 12 Monate vorher an schwerer und langdauernder Grippe erkrankt gewesen war.

Zum Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersucher ist die Zusammenfassung der Typen I und II notwendig, die eine Ausbeute von 9 = *50%* ergibt. Nimmt man noch die Typen III und IV hinzu, so steigt die Zahl der positiven Fälle auf 11 = *61,1* %.

Das Gesamtergebnis der Untersuchungsreihe zeigt *Tab. XIII.*

Tabelle XIII.

Influenzabacillenbefunde bei *Scharlach* im Jahre 1921 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	4 = 22,2%	*9 = 50%* (Typ I + II)	*10* = 55,6% (Typ I–III)	*11 = 61,1%* (Typ I–IV)
Pseudo-I.-B. = Typ II	5 = 27,8%			
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	1 = 5,5%			
Bacillus X = Typ IV	1 = 5,5%			
Negativ	7 = 38,9%			
	Summe 18 Fälle.			

Diese Befunde geordnet nach den Entnahmeorten gibt die nächste Tab. wieder:

Tabelle XIV.

Die Influenzabacillenbefunde der *Scharlachfälle* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Rachen	17	4	3	1	1	8
Hustenplatte . .	18	3	4	0	1	10
Sputum	5	2	0	1	0	2

Werden die beiden negativen Fälle aus dem Jahre 1919 mitberücksichtigt, so ergibt sich bei insgesamt 20 Scharlachfällen eine positive Influenzabacillenausbeute von 11 = *55* %.

Mit dem Serum von 17 der untersuchten Fälle wurden Agglutinationen mit einem polyvalenten Stamm (77) angesetzt, von diesen waren 13 positiv, also *76,5* %.

Die Stärke des Widals verteilt sich folgendermaßen:

bis 1: 25 + 1 mal,
„ 1: 50 + 5 mal,
„ 1: 100 + 6 mal,
und schließlich „ 1: 400 + 1 mal,



und zwar bei dem obenerwähnten 16jährigen Mädchen, bei dem 12 Monate nach ihrer schweren Grippe ausschließlich der Typ IV im Rachen gefunden wurde.

Vergleichen wir die Bacillenbefunde mit den Resultaten des Influenzawidals, so ergibt sich:

Unter 10 positiven Bacillenbefunden war der Widal 8 mal positiv, 2 mal negativ (in einem positiven Fall war kein Serum entnommen).

Unter 7 negativen Bacillenbefunden war der Widal 5 mal positiv, 2 mal negativ. In 3 Fällen von positivem Widal bei fehlendem Influenzabacillenbefund wird anamnestisch überstandene Grippe, die in einem Fall etwa ein Jahr, in den beiden anderen kürzere Zeit zurückliegt, angegeben; von den beiden anderen Kranken wird eine frühere Grippe negiert.

So zeigt also dies ausschließlich dem vierten Epidemiejahre entstammende Scharlachmaterial, übereinstimmend mit den Ergebnissen bei Masern und Keuchhusten, die weitgehende Durchseuchung mit Influenzabacillen, deren Grad durch den Widal noch von etwa 60% auf 75 % gesteigert enthüllt wird.

Diphtherie.

Unser Material an Diphtherie und diphtherieverdächtigen Anginen stammt insgesamt aus dem Jahre 1921. Mit Ausnahme einer Obduktion im März erstrecken sich unsere Untersuchungen über die Zeit vom Juni bis Oktober und wurden nur an klinischem Material vorgenommen.

Diese Sektion eines an Bronchopneumonie nach Diphtherie verstorbenen Kindes von 10 Monaten zeigte Infiltrationsherde in beiden Unterlappen und im rechten Oberlappen der Lunge, überall subpleuritische Petechien. Sämtliche untersuchten Lungenpartien erwiesen sich frei von Influenzabacillen, dagegen wuchsen Pneumokokken neben banalen Keimen.

Die Untersuchung der 20 klinischen Fälle umfaßt bei allen Kranken Hustenplatten und Rachenausstriche, bei 10 Patienten wurde auch Sputum verarbeitet, und zwar in allen Fällen innerhalb der ersten acht Tage der Krankheit, überwiegend am dritten bis vierten Krankheitstage. Auch hier galt stets der Differenzierung der verschiedenen Typen von Influenzabacillen unsere besondere Aufmerksamkeit.

Den echten Influenzabacillus fanden wir dreimal, ebenso oft die schon bei den Scharlachuntersuchungen geschilderte Übergangsform zum Typ II. Die gleiche Zahl positiver Befunde wiesen je die Typen III und IV auf, während sich der Typ II viermal fand. Sieben Fälle ergaben ein völlig negatives Resultat. Während sonst bei den Fällen mit positivem Diphtheriebacillenbefund der Tonsillen der Erreger sich bei der exakten Entnahme aus dem hinteren Nasenrachenraum niemals nachweisen ließ, wuchsen in einem Fall vom Rachenabstrich neben den fast in jedem Fall züchtbaren Streptokokken überwiegend

Diphtheriebacillen, die sich im Tierversuch als hochtoxisch erwiesen; bei dem Kranken dehnte sich der typische Belag von den Tonsillen und Gaumenbögen bis auf die hintere Rachenwand aus; die Hustenplatte zeigte keine Diphtheriebacillen (vgl. die Untersuchungen von *Strauß* bei Diphtherie, diese Zeitschr. **96**, 27), wohl aber den Typ III der hämoglobinophilen Stäbchen, die ihrerseits nicht aus dem Rachenabstrich wuchsen.

In drei Fällen fanden sich schon im direkten Ausstrichpräparat des Auswurfes, der bei allen Kranken mehr oder weniger nur aus dem Sekret des entzündeten Rachens bestand, zweimal vereinzelt, einmal reichlich *Pfeiffer*sche Stäbchen. Nur in diesem letzten Fall ließen sich diese aus dem Auswurf züchten, in den ersten beiden Fällen gelang der kulturelle Nachweis nur an den anderen Entnahmeorten.

Fassen wir wieder zum Vergleich mit der Statistik anderer Untersucher Typ I und II zusammen, so erhalten wir, da in einem Fall echte und Pseudoinfluenzabacillen nebeneinander gefunden wurden, 9 Fälle = *45* %; bei Zusammenfassung aller vier Typen ergeben sich wieder infolge des Nebeneinander dreier verschiedener Typen bei einem Kranken 13 Fälle = *65* %. Bei diesem ebenerwähnten bemerkenswerten Fall (Di. 10) konnten Typ I bis III, und zwar Typ I auf der Hustenplatte, Typ II und III aus dem Rachenausstrich isoliert werden.

So stellt sich also das Gesamtergebnis dar, wie *Tab. XV* zeigt:

Tabelle XV.

Influenzabacillenbefunde bei *Diphtherie* und diphtherieverdächtigen Anginen im Jahre 1921 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	6 = 30%	9 = *45*% (Typ I–II)	11 = 55% (Typ I–III)	*13* = *65*% (Typ I–IV)
Pseudo-I.-B. = Typ II	4 = 20%			
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	3 = 15%			
Bacillus X = Typ IV	3 = 15%			
Negativ	7 = 35%			
Summe	20 Fälle.			

Wieder nach dem Entnahmeort ordnet diese Befunde *Tab. XVI:*

Tabelle XVI.

Die Influenzabacillenbefunde der *Diphtheriefälle* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Rachen	20	5	3	1	2	9
Hustenplatte . .	20	5	2	2	2	10
Sputum	10	1	0	0	1	8

Bei Hinzunahme des negativen Sektionsfalles aus dem März kommen also auf insgesamt 21 Diphtheriefälle 13 positive = *61,9* %.

Bei der epikritischen Analyse der Fälle ergab sich, daß 11 von den 20 sichere Diphtherien mit positivem Bacillenbefund, 9 z. T. klinische Diphtherien mit negativem bakteriologischem Resultat, zum anderen Teil Anginen waren.

Auf die 11 sicheren Diphtherien entfallen 7 I.-B.-positive = 63,6% gegen 4 negative, auf die 9 anderen 5 I.-B.-positive = 55,6% gegen 4 negative Fälle.

Wie zu erwarten, zeigt dies Ergebnis die Abhängigkeit der Influenzabacillenansiedelung von dem anatomischen Prozeß der Schleimhauterkrankung und nicht von dem spezifischen Diphtherieinfekt als solchem.

Auch bei dieser Gruppe von Kranken wurde in 17 Fällen der Widal innerhalb der ersten acht Tage mit dem Stamm 77 angesetzt; es waren positiv 12 = 70,6%, negativ blieben 5.

Unter den 12 positiven betrug die Stärke der Reaktion:

	1: 25 + 50 ±	3 mal,
	1: 50 +	3 mal,
	1: 100 +	3 mal,
	1: 200 +	2 mal,
und	1: 400 +	1 mal,

Ein Vergleich der Bacillenbefunde mit dem Ausfall des Influenzawidals ergibt:

Unter 10 I.-B.-positiven Fällen war der Widal positiv 7 mal, negativ 3 mal (bei den 3 ersten Fällen mit positivem Bacillenbefund wurde kein Widal angesetzt).

Unter 7 I.-B.-negativen Fällen war der Widal positiv 5 mal, negativ 2 mal. In 4 der 5 I.-B.-negativen, Widal-positiven Fälle wurde in der Vorgeschichte Grippe angegeben.

Es enthüllt also auch hier die Untersuchung mit ihrem bakteriologischen Prozentsatz von 65%, ihrem serologischen von 71% die ungeheure Durchseuchung mit Grippebacillen im vierten Epidemiejahre.

Tuberkulose.

Eine Zunahme der Befunde mit dem Altern der Epidemie wird an unserem Tuberkulosematerial am deutlichsten, da wir hier vom gleichen Monat über je eine Reihe aus dem Jahre 1919 und 1922 verfügen. Dabei darf nicht übersehen werden, daß auch im Mai 1919 die Seuche bereits ein Jahr lang, und zwar in ungebrochener Kraft und intensivster Ausdehnung, grassierte. Damals kamen 13 Fälle einer Tuberkulosestation, im Mai 1922 12 Fälle der gleichen Station zur Untersuchung.

Bei den 13 Kranken des Jahres 1919 wurde nur Sputum in der üblichen Weise verarbeitet, bei den 12 dieses Jahres wurde noch die Untersuchung der Hustenplatte hinzugenommen.

Stellen wir zunächst das Material der ersten Untersuchungsreihe zusammen, so ergibt sich eine positive Ausbeute an Influenzabacillen von 4 Fällen = *30,8%*; negativ waren 9 Fälle. Bei 5 Kranken

wurde die Untersuchung nach fünf Tagen wiederholt und zeitigte in einem positiven und vier negativen Fällen das gleiche Ergebnis wie bei der ersten Untersuchung.

Die verarbeiteten Sputa waren in 11, darunter den 4 positiven Fällen eitrig, in einem Fall bestand der Auswurf nur aus Schleim.

Von 3 der 4 I.-B.-positiven Kranken wird anamnestisch Grippe angegeben, unter den 9 I.-B.-negativen hatten 6 früher eine Influenza durchgemacht.

Das Ergebnis der zweiten Untersuchungsreihe aus dem Jahre 1922 von insgesamt zwölf Patienten zeigt *Tab. XVII.* Dabei wurden in einem Fall (Tb. 11/22) zwei verschiedene Typen nachgewiesen, Typ I im Auswurf, Typ IV auf der Hustenplatte.

Tabelle XVII.

Influenzabacillenbefunde bei *Tuberkulose* im Mai 1922 zu Berlin.

Echte I.-B. = Typ I	3 = 25%	5 = 41,7%	8 = 66,7%
Pseudo-I.-B. = Typ II	2 = 16,7%		
Extreme Pseudo-I.-B. = Typ III	0		
Bacillus X = Typ IV	4 = 33,3%		
Negativ	4 = 33,3%		
	Summe 12 Fälle.		

Diese Befunde nach dem Entnahmeort getrennt zeigt *Tab. XVIII.*

Tabelle XVIII.

Die Influenzabacillenbefunde bei *Tuberkulose* an den verschiedenen Entnahmeorten.

Entnahmeort	Zahl	Typ I	Typ II	Typ III	Typ IV	Negativ
Sputum	12	3	2	0	1	6
Hustenplatte . .	12	1	2	0	3	6

Alle untersuchten Sputa enthielten Eiter, Beimengungen frischen oder alten Blutes 4.

Unter den 12 Fällen befanden sich 5 mit röntgenologisch bestätigten Kavernen, auf sie entfallen 2 der 8 positiven bakteriologischen Befunde. In beiden Fällen zeigte bereits der Ausstrich vom gewaschenen Sputum überaus reichlich Influenzabacillen in Haufen und Zügen, zum Teil auch intracellulär, so daß das Resultat der Aussaat, eine Reinkultur von Influenzabacillen, vorauszusehen war, während von den übrigen 6 durch Züchtung der Bacillen positiv erwiesenen Fällen nur noch eine seit 20 Jahren bestehende Lungentuberkulose, bei der keine Kavernen vorhanden waren, spärlich Influenzabacillen schon im Ausstrichpräparat erkennen ließ.

Von den 8 Pat. mit positivem Influenzabacillenbefund wurde viermal Grippe anamnestisch angegeben, viermal negiert, unter den 4 Negativen hatten 3 nach ihrer Angabe früher Grippe gehabt.

Die beiden Gruppen von Tuberkulösen zusammen ergeben also unter 25 Fällen 12 positive = *48%*.

An der Hand der beiden durch einen Zeitraum von drei Jahren getrennten Untersuchungsreihen haben wir besonders exakt die Ver-



gleichsmöglichkeit zwischen verschiedenen Perioden der Influenza-epidemie. Schalten doch die vom gleichen Untersucher mit den gleichen Methoden erhobenen Befunde alle die Fehlerquellen aus, die der Gegenüberstellung von Resultaten verschiedener Untersucher anhaften.

Und so zeigt auch ein Vergleich dieser beiden Reihen, wie wir es bereits bei den akuten Infektionskrankheiten und bei Gesunden gegenüber Statistiken anderer Untersucher dartun konnten, eine merkliche Vermehrung der positiven Influenzabacillenbefunde von 30,8% im zweiten Epidemiejahre auf 41,7% nach der letzten Welle dieses Jahres unter Weglassung des Typ IV; nehmen wir noch die Befunde an Typ IV hinzu, so steigert sich diese Zahl auf 66,7%, d. h. die Durchseuchung ist in den letzten drei Jahren um das Doppelte gestiegen. Den Einwand, daß die Hinzunahme der Hustenplatte zu der Steigerung der Befunde von 30,8 auf 41,7 % Veranlassung gibt, entkräftet ein Blick auf Tab. XVIII, die zeigt, daß bei diesen chronischen eitrigen Entzündungsprozessen der tieferen Atemwege für die Typen I und II der Influenzabacillen beide Methoden zu gleichem Resultat führen. Dagegen bestätigt die erhebliche Steigerung der Befunde an Typ IV durch die Hustenplatte den Eindruck der Untersuchungen von Scharlach und Diphtherie, *daß es sich bei dieser hämolytischen Variante um die für den Rachen charakteristische Standortsvarietät des Influenzabacillus handelt.*

Zusammenfassung:

Es wurden also in den Jahren 1919 bis 1922 Influenzabacillen von vier verschiedenen Typen insgesamt gefunden:

bei Masern	von 30 Fällen	in 16 = 53,3%,
„ Keuchhusten	„ 27 „	„ 15 = 55,6%,
„ Scharlach	„ 20 „	„ 11 = 55,0%,
„ Diphtherie	„ 21 „	„ 13 = 61,9%,
„ Tuberkulose	„ 25 „	„ 12 = 48,0%,
„ Gesunden	„ 28 „	„ 20 = 71,4%.

Bei ausschließlicher Berücksichtigung der Influenzatypen I und II sind die Prozentzahlen:

bei Masern	53,3,
„ Keuchhusten	55,6,
„ Scharlach	45,0,
„ Diphtherie	42,9,
„ Tuberkulose	36,0,
„ Gesunden	32,1.

Der relativ geringe Wert bei Tuberkulose in der *ersten* Zusammenstellung liegt zum Teil darin begründet, daß bei der ersten Hälfte der Fälle im Jahre 1919 keine Hustenplatten zum Studium mit heran-

gezogen wurden, ein Teil der *Rachenflora* also ausfiel. Tab. XVIII hat ja gelehrt, welche große Bedeutung wenigstens für den hämolytischen Typ IV gerade diesem Entnahmeort zukommt.

Weiter zeigt der Vergleich der beiden Zusammenstellungen die wichtige Rolle, die Typ III und IV besonders in den beiden Gruppen spielen, die ausschließlich im Jahre 1921 Gegenstand der Untersuchung waren, bei Diphtherie und den Gesunden; bei Diphtherie erhöht die Einrechnung dieser stark von der Grundform abweichenden Varianten die positive Ausbeute von 43 auf 62%, bei den Gesunden gar von 32 auf 71%.

Auch die Beobachtungen bei Masern und Keuchhusten hatten von Jahr zu Jahr steigende Werte, mit dem Fortschreiten der Epidemie von Welle zu Welle zunehmende Durchseuchung mit Influenzabacillen enthüllt.

Die große Zahl gesunder Keimträger einerseits, das regelmäßige Vorkommen des Bacillus am Ort des Krankheitsprozesses bei Fällen epidemischer Influenza anderseits beweist die schwankende Virulenz des *Pfeiffer*bacillus. Dafür, daß seine Ausbreitung bei Nichtinfluenzakranken, also die Häufung von Bacillenträgern, der Seuchenkurve parallel geht, scheinen uns in Übereinstimmung mit den zitierten Ansichten und Untersuchungen von *Pritchett* und *Stillmann*[1]), von *Pfeiffer*[2]) und seinen Mitarbeitern unsere eigenen Beobachtungen z. B. bei Masern, Keuchhusten, Tuberkulose, und der Vergleich unserer Ergebnisse, z. B. bei Gesunden des Jahres 1921, mit Untersuchungen anderer Autoren aus dem Anfange der Epidemie [*Uhlenhuth*[3]), *Neufeld* und *Papamarku*[4])] zu sprechen. Doch dürfte die weitere notwendige Klärung dieser Beziehungen erst von Jahre lang fortgesetzten Forschungen nach endgültigem Abklingen der Pandemie zu erwarten sein. Interessant, vielleicht von entscheidender Bedeutung, wäre schon heute ein Studium dieser Verhältnisse in bereits jetzt wieder seuchefreien Ländern mit tropischem oder kontinentalem Klima (s. Ende Kapitel V!). So wird die Forschung gerade auf Zeiten des Epidemieintervalls hingedrängt.

Es ist hier der Ort, zuerst einmal die Darstellung der vier Typen von Influenzabacillen zusammenzufassen und zu ergänzen.

IV. Die vier morphologischen Typen des Pfeifferschen Influenzabacillus.

Nicht mehr neu sind heute Versuche, die Gruppe der *Pfeiffer*schen Bacillen, deren heterogenen Charakter alle Untersucher erkannt haben,

---

[1]) S. Fußnote 2 S. 485.
[2]) S. Fußnote 4 S. 484.
[3]) S. Fußnote 1 S. 484.
[4]) S. Fußnote 3a S. 456.



in umrissene und scharf bestimmbare Typen einzuteilen. Zwei Methoden sind für diese Einteilung versucht worden, die *serologische* und die *biologische*. Von deutscher Seite hat vor allem *Bieling*[1]), serotherapeutisch orientiert, zwei Hauptgruppen festgestellt, polyvalente und monovalente Stämme, ohne mit seinen interessanten Untersuchungen der Fülle der Gestalten Herr geworden zu sein. Auch den Amerikanern ist der Versuch, zu *serologisch* definierbaren Gruppen zu kommen, nicht geglückt. (Dasselbe berichtet *Scott* [l. c.], vgl. Fußnote 3, S. 486). Daraus hat u.a. *Chesney*[2]) Folgerungen gegen die ätiologische Bedeutung des Keims für die Pandemie abgeleitet, offenbar ein Trugschluß, wie der Fall von *Anderson* und *Schultz*[3]) und Beobachtungen von *Bell*[4]) beweisen. Erstere isolierten bei einem Kinde mit Influenzameningitis in vivo nicht weniger als fünf Stämme, je einen aus dem Lumbalpunktat, aus dem Blut, aus Nase, Rhinopharynx und Rachen, die sämtlich serologisch verschieden waren; trotzdem nehmen sie mit Recht gemeinsame Herkunft an und stellen sich vor, daß der Mikrobe, der wahrscheinlich vom Rachen aus zu den Hirnhäuten gewandert und von hier ins Blut gelangt ist, infolge seiner Labilität in verschiedenen Organen umgewandelt wird. Die Einwirkung des Milieus auf infizierende Keime, biologisch und biochemisch, ist ja ein aktuelles Problem der Forschung; man denke an die Streptokokken und die Viridansfrage (*Morgenroth*, *Schnitzer* und Mitarbeiter, *Kuczynski* u. a.). Die Feststellung einer Abhängigkeit auch der serologischen Reaktion vom Standort dürfte auch für andere Bakterienarten bedeutsam sein. Auch *Bell* fand mehrfach im Rachen der gleichen Personen zwei, ja drei im kreuzweisen Agglutinations- und Absättigungsversuch verschiedene Varietäten, ohne daß freilich bei diesem Fundort eine komplexe Infektion mit der gleichen Sicherheit auszuschließen ist wie bei dem Meningitisfall von *Anderson* und *Schultz*.

So haben denn andere Untersucher nach *biologischen* Methoden zu einer Klassifikation zu kommen versucht. *Rivers*[5]) hat vor allem

---

[1]) *R. Bieling* (Höchst a. M.), Immunisierungsversuche mit Influenzabacillen. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. Therap., Orig.. **29**, 475. 1920. —

[2]) *Alan M. Chesney* (Washington), An immunologic study of bacillus influenzae. Journ. of inf. diseas. **29**, 132. 1921.

[3]) *Ruth A. Anderson* and *Oscar T. Schultz* (Chicago), Immunologic study of strains of bacillus Pfeifferi isolated from a case of meningitis. Journ. of exp. med. **33**, 653. 1921.

[4]) *Howard H. Bell* (St. Louis), Relation of different strains of influenza bacilli as shown by cross agglutination and adsorptions tests. Journ. of inf. diseas. **27**, 464. 1920.

[5]) *P. M. Rivers* (Baltimore), The biological classification of influenza bacilli. Bull. of John Hopkins hosp. **31**, 50. 1920. Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. **3**, 301. 1920.

die Indolreaktion als Maßstab benutzt; *Pritchett* und *Stillman*[1]) studierten neben der Indolbildung die Erzeugung von Nitrit, die Produktion von Gas aus Dextrose und die Zuckervergärung, und schließlich hat *Stillman*[2]) eine biochemische Einteilung auf Grund der drei Merkmale der Indolbildung, Gasproduktion und Saccharosevergärung in sechs Typen A bis F vorgenommen, von denen er den Typ A, der indolpositiv, gas- und saccharosenegativ ist, am häufigsten, den Typ D mit negativer Reaktion in allen drei Beziehungen an zweiter Stelle tand. Auch er stellte oft auf ein und derselben Platte mehr als einen seiner Typen fest und deutet solche Befunde als Folge der Lebensbedingungen im Organismus der Infizierten.

So zeigt das serologische und biologische Verhalten der Influenzabacillen mehr die außerordentliche Labilität als eine Heterogenität des Bakteriums. Und von der Vorstellung ausgehend, daß eine solche Bildsamkeit Rückschlüsse auf eine entsprechende Labilität der Virulenz erlaubt und damit Unterlagen für epidemiologische Folgerungen liefert, haben wir unsere morphologischen Studien ausgebaut. Diese Beobachtungen, die an *Pfeiffers*[3]) Schilderung der Pseudoinfluenzabacillen in jener inhaltsreichen grundlegenden Arbeit von 1893 anknüpfen, werden neuerdings, so weit wir sehen nur von *Bell* (l. c.), gestreift. So wie wir unsere Feststellungen im vorhergehenden Kapitel an der Hand des Untersuchungsmateriales entwickelt haben, sind wir zu vier Hauptformen gelangt, zwischen denen mannigfaltige Übergänge bestehen. 'Zusammengefaßt stellen sich unsere Typen I bis IV folgendermaßen dar:

Typ I wird von uns als die Grundform der *Pfeiffer*schen Bacillen betrachtet; er erscheint sowohl auf optimalen Nährböden wie in den Tautröpfchenkolonien der Blutplatte als winziges Kurzstäbchen von großer Gleichmäßigkeit, vergleichbar dem Bilde einer Melitensiskultur. Dieser „coccobacille de *Pfeiffer*" der Franzosen wäre also als der *echte* Influenzabacillus aufzufassen.

Demgegenüber zeigt der *Typ II* bereits die Merkmale der Pleomorphie; zwar überwiegen auf den Kochblutplatten noch die Kurzstäbchenformen, aber schon diese besitzen eine Längsausdehnung, die die Breite merklich übertrifft. Der Stäbchencharakter ist also deutlich ausgeprägt, ja einzelne Exemplare erreichen beträchtliche Länge und wachsen zu schlanken, fädigen Gebilden aus. Noch intensiver wird diese Gesamtvergröberung auf der gewöhnlichen Blutplatte, noch zahlreichere Scheinfäden steigern hier den Eindruck der Pleomorphie. Von jeher haben diese Scheinfäden als das Charakteristicum der *Pseudo*influenzabacillen gegolten.

[1]) S. Fußnote 2 S. 485. [2]) S. Fußnote 2 S. 486.

[3]) *Richard Pfeiffer* (Berlin), Die Ätiologie der Influenza. Diese Zeitschr. **13**, 357. 1893.



Und diese Vielgestaltigkeit nimmt geradezu groteske Formen bei dem *Typ III* an und rechtfertigt die Bezeichnung als *extreme* Pseudoform, die sich schon vor der Pandemie dem einen von uns (*Levinthal*, diese Zeitschr.) aufgedrängt hat. Von winzigen kokkoiden Gebilden bis zu phantastischen dicken Schlingen und Schleifen finden sich sämtliche irgend denkbaren Übergänge. Die Fäden können zu Knäueln verfilzt sein. Daneben erscheinen rundliche Gebilde von Granulumgröße und geblähte Kugeln. Zwischen stark gefärbten Formen liegen bei allen Färbungsmethoden ganz blasse Exemplare, so daß also der extremen Pleomorphie eine gleiche Polychromasie parallel geht. Dabei ist bemerkenswert, daß der verschiedene Grad der Färbbarkeit nicht für bestimmte Formen charakteristisch ist; d. h. nicht die kurzen Stäbchen sind stark, die Fäden schwach tingiert oder umgekehrt, vielmehr erscheinen intensiv gefärbte und blasse Gebilde jeder Gestaltung bunt durcheinandergewürfelt. Auch hier geht die Vielgestaltigkeit auf der Blutplatte oft noch erheblich weiter als auf optimalem Nährboden. Schon das mikroskopische Bild solcher Stämme drängt dem Beobachter den Eindruck auf, daß es sich hier um Degenerationsprozesse handelt; und diesem Eindruck entspricht die ganz regelmäßige Feststellung einer erheblichen Hinfälligkeit solcher Kulturen, die bei der Weiterzüchtung entweder sehr bald abreißen oder sich nach dem Typ I hin umwandeln. Mikrophotogramm 1 gibt einen Ausschnitt aus einer frischen Kultur eines extremen Pseudostammes[1]).

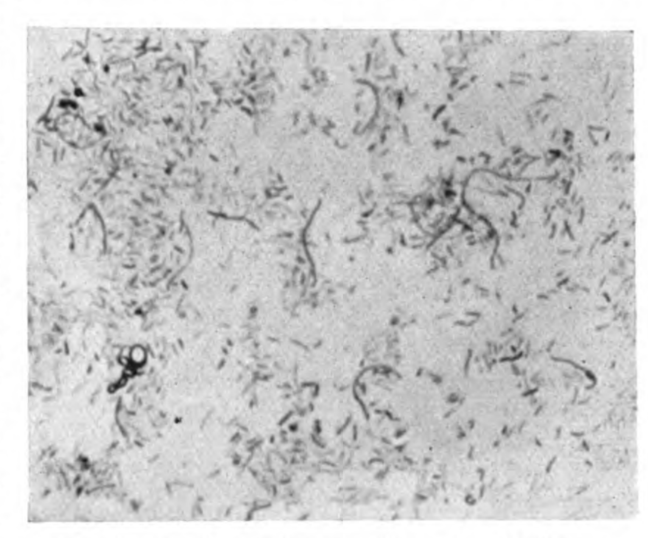


Abb. 1. *Extremer Pseudo*influenzabacillus = *Typ III* (Stamm 42). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1 : 1000.

Während Aussehen und Verhalten der Typen I bis III auf den festen Nährmedien keinerlei *makroskopischen* Unterschied erkennen lassen, wird der Geübte schon auf der Kochblutplatte die Kolonien des *Typs IV*, wenigstens in der Ausgangskultur, zu diagnostizieren vermögen. Die großen Kolonien sind deutlich opaker, dichter strukturiert, Merkmale,

[1]) Es braucht kaum bemerkt zu werden, daß wir die sehr schönen Photogramme der Kunst des Herrn Prof. *Zettnow* verdanken, dem wir uns herzlichst verpflichtet fühlen.

die bei der Weiterzüchtung sehr bald der ganz klaren, strukturlosen Wuchsform echter Influenzabacillen Platz machen. Entscheidend wird aber das Verhalten auf Blutmischplatten; hier zeigen alle frisch gezüchteten Kulturen intensive *Hämolyse*, die wie bei stark hämolytischen Streptokokken den Blutfarbstoff komplett auflöst und zu vollständiger Aufhellung des Nährbodens führt. Für die Beobachtung dieser Hämolyse erweist sich Kaninchenblut dem Pferdeblut erheblich überlegen. Bei Weiterzüchtung über Monate hin verhalten sich die Stämme recht verschieden; während die einen keinerlei Verminderung in der Produktion ihres Hämolysins erkennen lassen — wenigstens bisher —, besitzen wir Stämme, die nach etwa drei Monaten Fortzüchtung bei zweitägiger Weiterimpfung ihre hämolytische Fähigkeit mehr und mehr einbüßten und schließlich fast völlig verloren haben, während dieselben Stämme im Rachen des Spenders die



Abb. 2. *Hämolytischer Bacillus X = Typ IV* **(Stamm K. W.). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1 : 1000.**

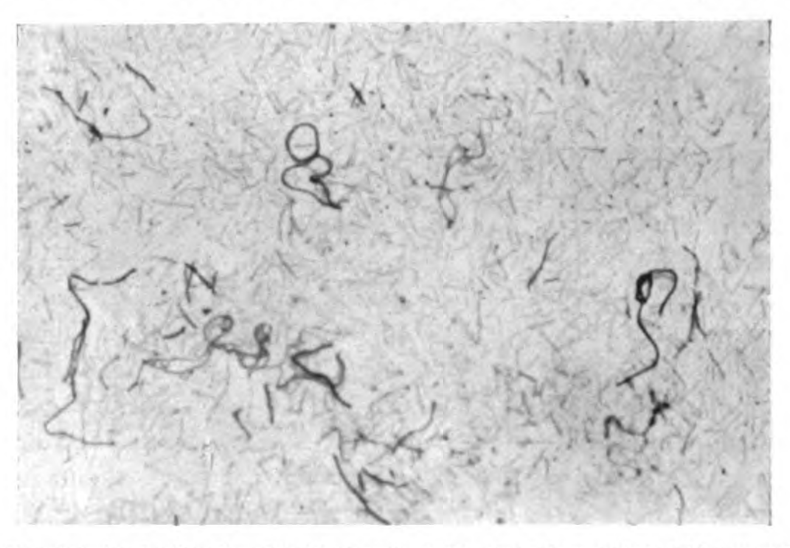


Abb. 3. *Hämolytischer Bacillus X = Typ IV* (Stamm L. K.). Gezüchtet auf **Kochblutagar; Färbung** Gentianaviolett. Vergrößerung 1 : 1000.

hämolytische Eigenschaft über viel größere Zeiträume hinaus unvermindert festhalten. So besitzen wir z. Zt. nebeneinander von Dr. *K. W.* den Stamm W_1 aus dem Januar 1922, der heute kaum



mehr Blut löst, und den Stamm W_2 von Ende April mit intensivster Hämolyse. Das mikroskopische Bild dieses von *Pritschett* und *Stillman*[1]) im Jahre 1918 zuerst aus Rachensekret isolierten „*Bacillus X*" entspricht etwa dem der extremen Pseudoform mit recht verschieden starker Fäden- und Kugelbildung der einzelnen Stämme, wie Abbildungen 2 und 3 zeigen. Der Grundstock wird von derben, geraden oder leicht gekrümmten Bacillen gebildet, die nicht selten an einem oder beiden Enden conidienähnliche Knöpfchen tragen; neben dieser Hauptform finden sich einerseits wieder Granula, Stäbchensplitter und geblähte Kugelgebilde, andererseits lange, schlanke, stark oder blaß gefärbte Scheinfäden oder dicke Schleifen und Schlingen jeden Farbgrades. Mehrfach trafen wir in letzter Zeit auf solche X-Stämme, die in den ersten Subkulturen neben den charakteristischen Kolonien überwiegend ganz dürftige, flache und klare Kolonien abspalteten; auf Oleatagar zeigten diese Stämme die großen typischen Kolonien nach 48 Stunden mit zahlreichen winzigen Tochterkolonien besetzt. Weiterzüchtung isoliert von beiden Kolonienarten führte bald zu übereinstimmenden, üppig und einheitlich wachsenden Kulturen. Monatelange Fortzüchtung führt auch beim Typ IV zu einer Vereinheitlichung und Verfeinerung der Stämme. Daß sich von frischen Nährböden gelegentlich alle vier Typen in Pasteurellaart färben lassen, ist nach neuesten Mitteilungen keine Eigenheit der hämoglobinophilen Bakterien (vgl. *Epstein*, Arch. f. Hyg. 1922, Bd. 90, S. 136). Auch dem Typ IV eignet, wie schon *Pritchett* und *Stillman* bemerken, große Hinfälligkeit; die Kulturen müssen etwa alle zwei Tage abgeimpft werden.

Gemeinsam allen vier Typen ist die Wuchsform in Bouillon, in der reines Bodensatzwachstum ohne Trübung der überstehenden Flüssigkeit auftritt. Die Morphologie der Bouillonkulturen entspricht den geschilderten Bildern der Stämme auf festen Nährböden.

Beobachtet man Kulturen der verschiedenen Typen über längere Zeiträume hin, so läßt sich die enge Zusammengehörigkeit der Typen I bis III leicht erweisen. Auf optimalen Nährböden gelingt mühelos die Umzüchtung der Pseudo- und extremen Pseudoformen zum Typ I. Abbildungen 4 und 5 zeigen einen extremen Stamm (13/22 E) auf Kochblutagar und gewöhnlicher Blutplatte, der schon nach wenigen Subkulturen allmähliche Umwandlung und schließlich nach etwa 14 Tagen in der achten bis zehnten Generation das Bild des echten Typs I (Abb. 6) aufwies. Auch *Pfeiffer*[2]), dem bei den Nachzüglern der Epidemie die auffällige Häufung solcher atypischen Stämme mit langen Fäden und „direkt monströsen, relativ kolossalen Formen, wie sie etwa den bekannten Involutionsformen des Pestbacillus entsprechen", auffiel, glückte es

[1]) S. Fußnote 2, S. 485.

[2]) S. Fußnote 4, S. 484.

vielfach, solche Stämme auf guten Nährsubstraten in typische Formen umzuwandeln. Anderseits gelang ihm ihre künstliche Erzeugung auf Blutagar mit Zusatz gewisser Salze, ähnlich wie bei den bekannten



Abb. 4. *Extremer Pseudo*influenzabacillus = *Typ III* (Stamm 13/22 frisch). Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung verdünntes Carbolfuchsin. Vergrößerung 1 : 1000.



Abb. 5. Derselbe wie Abb. 4, aber gezüchtet auf gewöhnlichem Blutagar.

Versuchen von *Maassen*[1]), der bei zahlreichen Bakterienarten entsprechende Bildungen, seine „teratologischen Wuchsformen", durch Zusatz von Lithiumchlorid zum Nährboden künstlich hervorrufen konnte. Auch die Deutung, die *Pfeiffer* in seiner letzten Publikation den geschilderten Beobachtungen gibt, entspricht unserer oben bereits zum Ausdruck gebrachten Anschauung; er sagt: „man könnte daran denken, in dieser neu hervortretenden Neigung der Influenzabacillen zur Degeneration den Ausdruck einer Schädigung zu erblicken, welche die Bacillen in dem durch das Überstehen der Epidemie modifizierten Menschenmaterial erleiden".



Abb. 6. Derselbe Stamm 13/22, zwei Wochen später, nach Umwandlung in den *echten* Influenzabacillus = *Typ I*. Gezüchtet auf Kochblutagar; Färbung Gentianaviolett. Vergrößerung 1 : 1000.

Wie ebenfalls bereits oben ausgeführt, betrachten wir auch den

[1]) *Albert Maassen* (Berlin), Die teratologischen Wuchsformen (Involutionsformen) der Bakterien und ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel. Arb. a. d. Reichsgesundheitsamte **21**, 385. 1904.

hämolytischen Typ IV als ein Umwandlungsprodukt der *Pfeiffer*schen Kokkobacillen unter der Einwirkung des infizierten Organismus. Wir fassen ihn als die für den *Rachen charakteristische Standortsvarietät* auf. Doch liegen die Dinge hier nicht so klar auf der Hand, da die Umformung erheblich weiter geht und den Rahmen, der die drei ersten Typen umspannt, weit überschreitet. Zwar haben wir in dem hervorstechendsten Unterscheidungsmerkmal, der Hämolysinbildung, eine Eigenschaft kennengelernt, die wenigstens bei einigen unserer Stämme durch lange fortgesetzte Umzüchtung zum Schwinden zu bringen war. Doch ist uns die Umwandlung bis zur echten Grundform noch nicht geglückt. Einen zweiten Unterschied des Typs IV gegenüber den nicht hämolytischen Typen enthüllt die genaue Prüfung der Hämoglobinophilie. Zwar wachsen unsere sämtlichen X-Stämme auf gewöhnlichen Agarplatten ebensowenig wie echte Influenzabacillen, aber schon die Aussaat auf 30proz. Ascitesagar läßt minimales Wachstum erkennen; in Symbiose mit gelben Staphylokokken tritt in der Umgebung des Ammenbakters diese geringe Entwickelung sogar auf einfachem Agar auf. Auch unsere ältesten Influenzastämme dagegen zeigen selbst auf staphylokokkenbeimpften Ascitesplatten völlige Sterilität. Es muß einstweilen dahingestellt bleiben, ob nicht unter Umständen die Umwandlung der *Pfeiffer*bacillen im menschlichen Organismus bis zu ganz saprophytischen, nicht mehr hämoglobinophilen, also auf gewöhnlichem Agar wachsenden Stämmen gehen kann. *Neufeld* und *Papamarku*[1]) haben in einem Fall neben echten hämophilen Stäbchen einen solchen Stamm mit hoher Agglutination durch Immunserum isoliert. Uns lag es vorerst ob, die Stellung der X-Bacillen zu klären.

So wurde der Versuch unternommen, durch *serologische* Prüfung die Frage der Zusammengehörigkeit der X-Bacillen und Grippestäbchen zu entscheiden. Nach den oben mitgeteilten Untersuchungen, besonders der amerikanischen Forscher, konnte für einzelne Stämme aus beiden Gruppen eine Reaktion im kreuzweisen Agglutinationsversuch erhofft werden, ohne daß allzugroße Erwartungen auf gesetzmäßige Resultate gehegt werden durften. In der Tat führten mühevolle Untersuchungen mit kreuzweiser Agglutination und im Absättigungsversuch zu Ergebnissen, die durchaus charakteristisch für die ganze Gruppe der Influenzabacillen sind. Gearbeitet wurde mit drei Seren vom Kaninchen; das erste Serum I war durch Behandlung mit drei Stämmen, darunter dem mehrfach erwähnten Widalteststamm 77, die sämtlich von einem alten Immunserum bis zur Titergrenze agglutiniert wurden, gewonnen und besaß einen Endtiter von 1 : 800; das zweite wurde hergestellt mit zwei anderen Stämmen vom Typ I, als Serum a bezeichnet, und besitzt für beide homologe Stämme einen Titer von zirka

[1]) S. Fußnote 3a S. 456.

1 : 2000, während heterologe Kulturen, die das Serum I bis zur Titergrenze beeinflußt, zwar meist in stärkeren Konzentrationen komplette Zusammenballung zeigen, aber nur bis 1 : 400—800 höchstens agglutiniert werden. Andererseits reagiert von den beiden a-Stämmen der eine mit Serum I gar nicht, der andere nur 1 : 25 stark, 1 : 50 schwach positiv. Während die Mehrzahl unserer Stämme vom Typ I—III von beiden Seren, wenn auch verschieden stark, agglutiniert wird, besitzen wir einige wenige Kulturen, die mit Serum I positiv, mit Serum a negativ reagieren, und ebenso ein paar Stämme, die sich umgekehrt verhalten. Mit einem Wort, schon die Verwendung dieser beiden Influenza-Immunsera bestätigt die serologische Heterogenität der Art, wie u. a. die amerikanischen Autoren sie schildern. Schließlich wurde durch Vorbehandlung mit zwei X-Stämmen, W. L. X und K. W. X, ein Serum vom Kaninchen gewonnen und zuerst festgestellt, daß von den beiden homologen Kulturen K. W. überhaupt nicht, W. L. bis 1: 800 schwach, bis 1 : 100 fast komplett agglutiniert wurde. Von anderen X-Stämmen verhielten sich die einen mit diesem Serum X wie W. L., andere wie K. W. Aber sowohl diese positiven wie die negativen Stämme ergaben mit dem Serum I schwach *positive* Reaktion, nicht dagegen mit dem Serum a. Andererseits ist das Serum X völlig wirkungslos für fast alle Influenzastämme mit der interessanten Ausnahme des extremen Stammes 42 (Abb. 1), der vom Serum I nur minimal, vom Serum a gar nicht, vom Serum X dagegen bis 1 : 100 agglutiniert wird.

Fassen wir diese kreuzweisen Agglutinationsversuche zusammen, so läßt sich sagen: soweit serologische Untersuchungen an *Pfeiffer*-bacillen überhaupt Schlüsse zulassen, zeigt sich eindeutig die Zusammengehörigkeit aller vier Typen zu einer Bakterienspecies.

Dagegen waren die Absättigungsversuche völlig unbefriedigend; bei allen drei Seren banden Stämme aus beiden Gruppen, echte und hämolysierende, immer nur die Agglutinine für sich selbst, nicht einmal für andere gleich stark agglutinierende Stämme desselben, geschweige für solche vom anderen Typ.

Ganz im Sinne der Agglutinationsversuche konnte dagegen schließlich noch ein Beweisstück für die Artgleichheit von Influenzastäbchen und X-Bacillen beigebracht werden.

In Fortsetzung seiner Studien über den „Satellitismus“ hat *Davis*[1]) in der Beobachtung dieses Symbiose-Phänomens ein Mittel zur Klassifikation der hämophilen Bakterien entdeckt. Er stellte zuerst einmal fest, daß das Phänomen der sog. Riesenkolonien durch Verwendung *aller* Bakterienarten, pathogener wie saprophytischer, hämolysierender

[1]) *David J. Davis* (Chicago), V. The value of the satellite (or symbiosis) phenomenon for the classification of hemophilic bacteria. Journ. of inf. diseas. **29**, 187. 1921.

wie nichthämolytischer, hervorgerufen wird; zu solchen Ammenbakterien gehören auch andere hämophile Bakterien, wie die von *Bordet*, *Morax-Axenfeld*, *Ducrey*, die ihrerseits das Phänomen des Riesenwachstums durch Symbiose mit anderen Bakterienarten nicht zeigen. Also ist das Phänomen spezifisch für Influenzabacillen. Aber weiter zeigte *Davis*, daß eine einzige Bakterienart auch bei Influenzabacillen kein Riesenwachstum auszulösen vermag, nämlich Influenzabacillen selbst, auch Stämme von serologisch und biochemisch differentem Charakter. Mit diesen beiden Merkmalen, dem Auftreten von Riesenkolonien durch Ammenbakterien oder (s. oben) vitaminöse Extrakte aus tierischen und pflanzlichen Geweben und dem Unvermögen, selbst als Ammenbakterien für echte Influenzabacillen zu dienen, ist also ein Mittel der Klassifikation der *Pfeiffer*species gegeben.

Die scheinbare Ausnahme, die *Davis* mit Stämmen der *Koch-Weeks*schen Conjunctivitis fand, erschüttert nicht die bedeutsame Feststellung. Denn offenbar hat der Forscher gar nicht den *Koch-Weeks*schen auf Ascitis wachsenden Bacillus, sondern Stämme von Influenzaconjunctivitis in der Hand gehabt. Zaghaft sagt er selbst: „several strains of bacilli from the conjunctivitis, which, I think, commonly would be called *Koch-Weeks*."

Und mit diesem Mittel haben wir Influenzabacillen der Typen I und II einerseits und X-Stämme andererseits wechselseitig auf Pferdeblutagar geprüft und festgestellt, daß erstens alle diese Stämme gleichmäßig, z. B. durch gelbe Staphylokokken als Ammenbakterien, das Satellitismusphänomen aufweisen, zweitens aber dies Phänomen der Riesenkolonien bei den Influenzastämmen nicht durch die X-Stämme, und bei diesen nicht durch die ersteren zu erzeugen ist.

Es darf also das Kapitel mit dieser Zusammenfassung abgeschlossen werden: Es konnten außer den *echten* kokkoiden Grippestäbchen drei weitere morphologische Typen von Influenzabacillen, die *Pseudo*form, die *extremen* Pseudobacillen und die *hämolysierenden X*-Bacillen aufgestellt und als Varianten einer einheitlichen Species dargetan werden. Die Umzüchtungsversuche beweisen, daß die Typen II und III nur labile Varietäten, Typ IV, die X-Bacillen, vielleicht eine Dauermodifikation darstellen. Die Häufung solcher Befunde in der letzten Zeit im Einklang mit den älteren Beobachtungen *Levinthals* legt die Deutung nahe, daß es sich bei diesen Formen um Ergebnisse von Immunitätsvorgängen im durchseuchten Menschenmaterial, zum Teil auch um spezifische Einwirkungen eines bestimmten Milieus, z. B. des Rachens für die X-Bacillen, handelt, Verhältnisse also, die ein Gegenstück zu dem Kapitel der Diphtheriebacillen und der Diphtherioden darstellen.

V. Epidemiologisch-ätiologische Schlußbetrachtung.

Aus dem Material der vorhergehenden Kapitel haben sich uns folgende Tatsachen ergeben: Der *Pfeiffer*sche Influenzabacillus fin-

det sich als der regelmäßigste Mikrobe bei Fällen der epidemischen Grippe, und zwar, wie die Sektionen beweisen, vor allem auf den entzündeten Schleimhäuten der Atemwege, in den Lungen und nicht ganz so häufig in den regionären Lymphdrüsen. Weiterhin jedoch begegnet ihm der Untersucher zu einem hohen Prozentsatz bei Patienten akuter Infektionskrankheiten mit Beteiligung der Atmungswege, und darüber hinaus lassen sich unter Gesunden zahlreiche Bacillenträger ermitteln. Diese Verbreitung des Keimes erscheint in Abhängigkeit von der Ausdehnung und Dauer der Epidemie und geht immer stärker hervortretender Neigung, in atypisch-degenerierten Umwandlungsformen aufzutreten, parallel. Und diese Labilität einerseits, die große Zahl solcher Keimträger und Dauerausscheider andererseits spricht für eine geringe Pathogenität des weitverbreiteten Mikroben. So ist es klar, und wir befinden uns hier durchaus in Übereinstimmung mit den Kritikern der *Pfeiffer*schen Lehre, daß der Bacillus *ohne weiteres* nicht als Primärerreger der Seuche angesprochen werden kann. Um ihm seine Bedeutung für den Krankheitsprozeß zu geben, muß noch ein weiteres Moment hinzukommen.

Man hat die Lösung dieses Geheimnisses auf zwei Wegen versucht: Die einen haben dem Keim jede ätiologische Bedeutung für die epidemische Influenza abgesprochen und ihn zu einem Mischinfizienten, dem vielleicht wichtigsten Trabanten eines noch unbekannten Primärerregers, degradiert; die anderen betrachten ihn auch weiterhin im Sinne der *Pfeiffer*schen Lehre als das bakterielle Substrat der Seuche, das jedoch nur in einer *hochvirulenten Mutation* jenen Grad von Pathogenität und Infektiosität besitzt, der für die Krankheit charakteristisch ist.

Es ist bekannt, daß die Mehrzahl der Forscher aus der ersten Gruppe sich nicht mit einem resignierten „Ignoramus" zufrieden gab und das unbekannte Virus der Seuche unter der Gattung jener kleinsten pathogenen Lebewesen, die Filterkerzen passieren, aufzuspüren unternahm. Auf zwei Fährten versuchte man, einem filtrablen Virus beizukommen; einmal im Infektionsexperiment an Mensch und Tier mit filtrierten Exkreten und Organextrakten Erkrankter, und andererseits mit mikroskopischen und kulturellen Studien an solchen Filtraten. Die reinen Infektionsversuche (*Kruse*, *Selter*, *Friedberger* und *Konitzer*, *P. Schmidt*, *Moreschi*, *Micheli* und *Satta*, *da Cunha* und Mitarbeiter, *Yamanouchi* und Mitarbeiter, *Lister* und *Taylor*, *Wahl* und Mitarbeiter, *Nicolle* und *Lebailly*, *Fejes* und andere an Menschen oder bei Affen), wie sie das Referat von *Levinthal* ausführlich darstellt und würdigt, können hier mit der Zusammenfassung übergangen werden: es konnte zum Beweise einer Grippe erzeugenden Substanz im Filtrat nichts beigebracht werden, was der Kritik standhält. Auch die mikro-



skopischen und kulturellen Untersuchungen (*v. Angerer*, *Leschke*, *Binder* und *Prell*, sowie *Prell*) zerpflückte die Kritik (*Prausnitz*, *Wade* und *Manalaing*, *Paschen*, *Olsen*, *Keegan* und andere) (vgl. a. a. Orte). Dagegen verdienen ein paar englische und amerikanische Arbeiten eingehendere Stellungnahme. Bei der Armee in Frankreich traten *Gibson*, *Bowman* und *Connor*[1]) bereits 1918 und 1919 mit der Mitteilung hervor, es sei ihnen mit Filtraten von Sputum und Blut Grippekranker innerhalb der ersten drei Krankheitstage die Infektion von Affen, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen geglückt, die nach sechstägiger (!) Inkubation leicht fieberhaft mit geringen Krankheitserscheinungen, z. B. Conjunctivitis (bei subconjunctivaler Injektion!), Appetitlosigkeit oder Durchfall für wenige Tage erkrankten und wieder genasen. Wurden sie jedoch am dritten Tage der Krankheit getötet (Beispiel: ein Affe mit Durchfall am siebenten Tage nach der Infektion), so zeigte die Sektion Kongestion der Trachea, dunkelrote Flecken in den Lungen ohne Bronchopneumonie bei normalen Pleuren und hämorrhagisches Exsudat in den Lungen. Nach Passage durch drei Kaninchen, die zu einer Virulenzsteigerung führte, gelang aus der Niere in Ascites nach der streng anaeroben Methode *Fosters* oder *Noguchis* die Züchtung winziger gramnegativer kokkoider Gebilde, die bis zur dritten Generation fortgezüchtet werden konnten. Mit solchen Kulturen infizierte Kaninchen blieben zwar frei von Krankheitserscheinungen, aus ihrer Niere konnten jedoch am siebenten Tage von neuem die beschriebenen Kugelkörperchen kulturell nachgewiesen werden. Und endlich gelang eine solche Züchtung nicht nur aus filtrierten Lungenextrakten, sondern auch direkt aus Filtraten menschlichen Sputums. Die Autoren demonstrierten ihre Kulturbefunde und Präparate *Wilson*, der mit *Bradford* und *Bashford*[2]) ähnliche Untersuchungsergebnisse publiziert hatte; und dieser bestätigte die Identität der Befunde *Gibsons* und seiner eignen. Nun haben aber kurz darauf die letztgenannten Autoren ihre Mitteilungen im unmittelbaren Anschluß an eine experimentelle Widerlegung durch *Arkwright*[3]) zurückgezogen.

[1]) *H. Graeme Gibson*, *F. B. Bowman* and *J. I Connor* (Abbeville, Frankreich), A filtrable virus as the cause of the early stage of the present epidemic of influenza. Brit. med. journ. 1918, S. 645. — *Dieselben*, The etiology of influenza. A filtrable virus as the cause, with some notes on the culture of the virus by Noguchi's method. Ebenda 1919, S. 331.

[2]) *Sir John Rose Bradford* (Frankreich), A communication on a „filter-passing" virus in certain diseases. Brit. med. journ. 1919, Nr. 3046, S. 599. — *E. F. Bashford*, The experimental reproduction of influenza, nephritis and encephalitis. Ebenda S. 601. — *J. A. Wilson*, The bacteriology of certain filter-passing organisms. Ebenda S. 602.

[3]) *J. A. Arkwright* (Lister-Institute), A criticism of certain recent claims to have discovered and cultivated the filter-passing virus of trench fever and of influenza. Brit. med. journ. 1919, Nr. 3060, S. 233. Mit Noten von *Bradford* und *Wilson*, S. 236.



Auf diese „extraordinary retraction" nehmen auch *Branham* und *Hall*[1]) in Chicago bezug, die im Winter 1919/20 mit der gleichen Noguchimethode unter Verwendung verschiedener Nährmedien Züchtungsversuche mit Rachenwaschwasser von gewöhnlichen Erkältungen, echter Influenza und Gesunden unternahmen und zeigten, daß bei Gebrauch von Kaninchenniere nicht nur bei jeder Art von Ausgangsmaterial, sondern auch in allen unbeimpften Kontrollröhrchen nach einigen Tagen bei klarbleibender überstehender Flüssigkeit über dem Organstück am Boden eine feine Trübung auftritt, die aus den geschilderten Granulis, auch in Häufchen- und Kettenlagerung, besteht. *Hall* und seine Mitarbeiterin deuten diese Gebilde als Kunstprodukte, wahrscheinlich infolge der Gewebsautolyse, und mahnen zur Vorsicht.

Die Schilderung jener zarten Trübung und ähnlicher mikroskopischer Befunde findet sich wieder in Mitteilungen von *Olitsky* und *Gates*[2]) am Rockefeller Institut, deren Arbeiten jedoch weit über die erwähnten an Umfang, Exaktheit und Bedeutung hinausgehen. Ein Gegenstück zu diesen Studien, eine Publikation des durch seine Encephalitisforschung bestens beglaubigten *Loewe* mit *Zeman* (Journ. of the americ. med. assoc. **76**, 15. 1921) war uns bisher nicht zugänglich. Dagegen liegen die Mitteilungen von *Olitsky* und *Gates* bis zur siebenten Fortsetzung vor und stellen heute bereits ein Material dar, an dem man nicht mehr vorübergehen kann.

In einer ersten Serie von Versuchen schufen sich die Autoren ihre Experimentalmethode und studierten die klinischen und pathologischen Veränderungen am Tier der Wahl, dem Kaninchen, nach *intratrachealer* Injektion *unfiltrierter* Nasen-Rachenwaschwasser von fünf Influenzakranken der ersten (1918/19) und von drei Patienten der zweiten (1920) Seuchenwelle. In sieben von diesen acht Fällen, in denen Material innerhalb der ersten 36 Stunden des Anfalles entnommen war, führte die Injektion zu einem charakteristischen Krankheitsprozeß, während in späteren Stadien, ebenso bei Gesunden und bei nichtgrippösen Prozessen, der Atemwege sich *ausnahmlos negatives* Resultat ergab. Die Erkrankung des Tieres beginnt nach 24—48 Stunden und zeigt Tem-

[1]) *Sara E. Branham* and *Ivan C. Hall* (Chicago), Influenza studies. III. Attempts to cultivate filtrable viruses from cases of influenza and common colds. Journ. of inf. diseas. **28**, 143. 1921.

[2]) *Peter K. Olitsky* and *Frederick L. Gates* (New York), Experimental studies of the nasopharyngeal secretions from influenza patients. Journ. of exp. med. — I. Transmission experiments with nasopharyngeal washings. **33**, 125. 1921. — II. Filterability and resistance to glycerol. Ebenda S. 361. — III. Studies of the concurrent infections. Ebenda S. 373. — IV. Anaerobic cultivation. Ebenda S. 713. — V. Bacterium pneumosintes and concurrent infections. **34**, 1. 1921. — VI. Immunity reactions. **35**, 1. 1922. — VII. Serological reactions. Ebenda S. 553.



peraturerhöhung um etwa 1° C, Schlaffheit, gesträubtes Haar und Conjunctivitis. Das Hauptsymptom sehen die Autoren in einem starken Abfall der mononucleären Leukocyten, also einer *Lymphopenie*. Die Dauer der Erkrankung beträgt etwa drei Tage, dann kehrt das Tier zur Norm zurück. Wird es auf der Höhe des Anfalles getötet, so finden sich ausschließlich Affektionen in den Atemorganen, und zwar Lungenödem und -emphysem, sowie ein bunt hämorrhagisches Bild mit Petechien, millimeterbreiten Flecken oder über breite Teile eines Lappens sich erstreckenden Feldern. Die Pleuren sind frei. Mikroskopisch zeigen sich die Alveolen voll koagulierten Serums, Erythrocyten, mononucleären und pseudoesinophilen Leukocyten und desquamierten Epithelien. In den Interalveolärsepten besteht Infiltration mit einkernigen Zellen. Die Bronchien sind ebenfalls von roten und weißen Blutzellen und degenerierten Epithelien erfüllt, die Capillaren blutreich. Die gewöhnlichen aeroben und anaeroben Kulturen bleiben steril.

Den reproduzierten Symptomenkomplex und sein pathologisch-anatomisches Korrelat betrachten die Autoren als den Typ des reinen und unkomplizierten Influenzaanfalles. Und daß diese Kaninchengrippe wirklich die Folge einer echten Infektion durch ein Contagium animatum ist, beweisen sie durch Fortführung der „aktiven Substanz“ in langen Serien von Tierpassagen durch Inokulation mit Lungengewebe der infizierten Kaninchen. Weiterhin konnten nun die gleichen Effekte mit *Berkefeldfiltraten* des Ausgangsmateriales beim Kaninchen und Meerschweinchen erzielt werden, während sich der Affe auffälligerweise als refraktär erwies. Weder durch intratracheale noch subconjunctivale Injektion der Filtrate oder durch Kombination beider Versuche konnten Rhesusmakaken infiziert werden, im Gegensatz zu den zitierten Versuchen von *Nicolle* und von den Engländern. In 50%igem Glycerol bewahrte das Material seine Infektiosität bis zu 9 Monaten.

Schließlich gelang aus den Lungen infizierter Tiere, später aus den Filtraten von Rachenwaschwasser frisch erkrankter Personen in sechs von elf Fällen, dagegen aus späteren Stadien nur einmal 48 Stunden nach dem Beginn des Anfalles, nie aus Sektionsmaterial und in zahlreichen Kontrollversuchen mit menschlichen und tierischen Substraten nach der Noguchimethode die Züchtung eines 0,15—0,3 μ großen, gramnegativen, gut mit Löfflers Methylenblau färbbaren, bacilloiden Gebildes von monomorphem Habitus, meist solitär, oft in Diploform, gelegentlich in kurzen Ketten gelagert. Die Mikroorganismen sind filtrierbar und gedeihen in Symbiose mit gewöhnlichen Bakterien, vor allen Influenzabacillen, Pneumokokken, Streptokokken und Staphylokokken. Halbstündige Erhitzung auf 56° C tötet sie ab, dagegen halten sie sich bei Zimmertemperatur in Massenkulturen bis zu sechs Monaten. Mit solchen




Kulturen konnten ganz die gleichen Infektionsresultate gewonnen werden, wie oben geschildert.

Die durch solche intratracheale Infektion gesetzte Schädigung der Lunge macht diese empfänglich für sonst bei gleichem Infektionsmodus nicht pathogene Keime, z. B. Pneumokokken und Influenzabacillen, ganz gleich ob das „Influenzavirus" in Gewebsfiltraten oder Reinkulturen gegeben wird. Diese Feststellung findet ihr Gegenstück in der Influenzapathogenese des Menschen; sie wurde bestimmend für die Bezeichnung des Keimes als *Bacterium pneumosintes* (von πνεύμων = Lunge und σίντες = Verwüster, Schädling).

Der letzte bisher publizierte Teil der Studien von *Olitsky* und *Gates* weist erstens nach, daß Tiere nach einmaliger Infektion gegen Reinfektionen manchmal bis zu 14 Monaten immun geworden sind, und benutzt diese Feststellung im kreuzweisen Infektionsversuch noch einmal zum Nachweis der Identität jener krankmachenden Substanz im Rachensekret Influenzakranker, im Lungengewebe infizierter Kaninchen und des Bacterium pneumosintes in Reinkultur. Zweitens aber konnte mit durch *Gates* (Journ. exp. med. **35**, 635. 1922) modifizierter Kulturmethode der Keim in einer Form gezüchtet werden, die seine Verwendung als Antigen für serologische Reaktionen gestattet. So wurden im Serum eines durch fünfmalige Injektion in 5—7 tägigen Abständen mit Reinkultur immunisierten Kaninchens Agglutinine, Präcipitine, komplementbindende Antikörper und Bakteriotropine im Phagocytoseversuch mit der *Neufeld*methode nachgewiesen. Die Serie dieser wichtigen Mitteilungen schließt mit einer bedeutungsvollen Tabelle; diese zeigt im Gegensatz zu drei negativen Normalkaninchenseren nicht nur den hohen Agglutinationstiter des immunisierten Tieres, sondern auch positive Reaktion, wenn auch schwächer, im Serum zweier Kaninchen nach dem *einmaligen Infektions*anfall. Hier muß die weitere Forschung anknüpfen.

Es müssen sich im Serum von Influenzakranken und -rekonvaleszenten die gleichen Antikörper nachweisen lassen. Die Seuchenwelle des letzten Frühjahres wird auch in Amerika das längere Zeit entbehrte Untersuchungsmaterial geliefert haben.

Ob schließlich etwa Infektionsversuche am Menschen mit frischer Reinkultur gewagt werden dürften und zu andern Ergebnissen führen würden, als die oben erwähnten negativen Experimente mit Filtraten, bleibe dahingestellt.

Vorläufig darf nicht übersehen werden, daß, abgesehen von dem noch geringen Material, das geschilderte Krankheitsbild beim Kaninchen kaum dem entspricht, was wir beim Menschen Influenza nennen. Wir müßten umlernen; als Influenza vera dürfte nur ein ganz leichter und transitorischer Infekt mit katarrhalischen Reizerscheinungen und un-

bestimmtem Krankheitsgefühl, leichtem Fieber und starker Lymphopenie bezeichnet werden; alles andere, Bronchitis mit Husten und Auswurf usw., wäre auf Konto einer Mischinfektion zu setzen, der das lungenschädigende Bacterium pneumosintes den Weg bahnt.

Nun muß daran erinnert werden, daß die gleiche Wirkung einer Förderung nicht nur experimenteller, sondern auch spontaner Mischinfektionen bei Kaninchen und Meerschweinchen durch das *Toxin von Influenzabacillen* erzeugt werden konnte. Zitate solcher Versuche finden sich z. B. bei *Fildes* und *MacIntosh*[1]), die außerdem mit dem Influenzabacillen-Toxin allein bei intravenöser Applikation ein viel grippeartigeres Lungenbild hervorrufen konnten, als *Olitsky* und *Gates* mit ihrer brüsken Infektionsmethode.

Und weiter darf nicht vergessen werden, daß es zwei anderen amerikanischen Forschern, *Blake* und *Cecil*[2]), gelungen ist, an Affen mit Reinkulturen des *Pfeiffer*schen Influenzabacillus einen Krankheitsprozeß zu erzeugen, der mit kürzester Inkubation, Fieber und starker Leukopenie, bei Infektion von der Nase und dem Munde aus — statt der gewaltsamen intratrachealen Insufflation — mit descendierenden Entzündungserscheinungen der Trachea, der Bronchien und gelegentlich der Lungen vielmehr unseren Begriffen von Influenza entspricht als das Kaninchensyndrom von *Olitsky* und *Gates*. Die pathologisch-anatomischen Schilderungen vollends, die *Cecil* und *Blake*[3]) geben, entsprechen mit Hämorrhagien, Ödem, Emphysem und peribronchialer zelliger Infiltration, auch ohne Hilfsinfektion eines filtrierbaren Virus, ganz dem pathologischen Bilde der menschlichen Grippe. Aber auch bei *Blake* und *Cecil*, deren viel zitierte Arbeiten längst Gemeingut der Influenzaforschung geworden sind, genügte nicht die Verwendung einer erstbesten *Pfeiffer*kultur. Vielmehr mußte einer solchen durch komplizierte Tierpassagen der ausreichende Grad von Virulenz erst angezüchtet werden. So geben diese Versuche der eingangs dieses Kapitels formulierten zweiten Hypothese eine wichtige experimentelle Basis. Diese Hypothese, zu deren Verfechter sich auch das erwähnte Referat von *Levinthal*[4]) gemacht hat, kommt mit dem Influenzabacillus als ätiologischem Faktor der Grippe aus unter der Annahme einer zeitweise hochgesteigerten Virulenz, die wiederum rasch verlorengehen kann.

---

[1]) *Paul Fildes* and *James MacIntosh* (England), The aetiology of influenza. Brit. journ. of exp. pathol. **1**, 119 u. 159. 1920. Ref. Ber. üb. d. ges. Physiol. **3**, 548.

[2]) *Francis G. Blake* and *Russel L. Cecil* (Washington), Studies on experimental pneumonia. IX. Production in monkeys of an acute respiratory disease ressembling influenza by inoculation with bacillus influenzae. Journ. of. exp. med. **32**, 691. 1920.

[3]) *Cecil* and *Blake*, X. Pathology of experimental influenza and of bacillus influenzae pneumonia in monkeys. Ebenda S. 719.

[4]) S. Fußnote 1 S. 457.

Diese Virulenzlabilität findet ihr morphologisches Gegenstück in der mitgeteilten Typenvariabilität. Auch *Blake* und *Cecil* konnten zeigen, daß ihr hochgezüchteter Stamm schon nach fünfmaliger Passage künstlicher Nährböden jede Virulenz restlos einbüßte. Dagegen genügte bei *Cecil* und *Steffen*[1]) schon einmalige Passage durch einen Affen, um einen Influenzastamm wenigstens insoweit infektionstüchtig für eine kleine Reihe von Versuchen am Menschen zu machen, daß durch intranasales Einträufeln kleinster flüssiger Kulturmengen nach ganz kurzer Inkubation ein zwar fieberloses, aber mit Schwäche, Kopfschmerz, Rückenschmerz, Bruststichen, Conjunctivitis, Rhinitis, Pharyngitis, Tracheitis mucopurulenta und Leukopenie durchaus grippöses Syndrom von mehrtägiger Dauer hervorgerufen werden konnte.

Durch diese Laboratoriumsexperimente sowohl als auch durch unsere morphologischen Beobachtungen hat die Anschauung von der Labilität der Virulenz bei Influenzabacillen eine tragfähige Grundlage erhalten. Was die Hochzüchtung des Erregers im *geschichtlichen* Werden und Entstehen der Seuche betrifft — ein Problem, das für ein filtrables Virus ebenso gelten würde—, so müssen alle Erklärungsversuche von der Tatsache ausgehen, daß die Krankheit *bei uns endemisch* ist, von Zeit zu Zeit kleinere Epidemien hervorruft und nur in gewissen Zeitabständen gewaltige *pandemische* Ausbreitung erlangt, die nicht schlagartig über die Menschheit hereinbricht, sondern allmählich aus ihrem Heimatboden in den Kulturländern emporwächst, wie die Geschichte von 1914—1918 es lehrt. Dabei müssen Immunitätsvorgänge, beruhend auf der allgemeinen Durchseuchung, vielleicht auch eine Auswahl der Widerstandsfähigen, eine bedeutungsvolle Rolle spielen, wenn auch sicher nicht im Sinne einmaliger absoluter Immunisierung durch eine Pandemie. [Vgl. *Neufeld*[2]).]

Es sei erlaubt, zum Schlusse die Hypothese hier zu zitieren, die sich dem einen von uns (L.) aus dem ganzen Material seines Referates aufgedrängt hat: „Nun berichten erfahrene Tropenärzte übereinstimmend, daß sie unter der einheimischen Bevölkerung niemals influenzaartige Erkrankungen beobachtet haben; ich darf mich auf *F. K. Kleine*, *Claus Schilling*, *Taute* berufen. Und schließlich fällt auf, daß alle Schilderungen über die Pandemie von 1918—1920 in Tropenländern dahin übereinstimmen, daß hier die Wirkung der Seuche geradezu verheerend gewesen sei: ‚Es war ein großes Sterben', sagt *Taute*; ‚durch die Eingeborenenländer fegte die Plage wie ein Feuer', sagt der medizinische Mitarbeiter der *Times*. Derselbe Gewährsmann

[1]) *Russel L. Cecil* and *Gustav I. Steffen* (Washington), Acute respiratory infection in man following inoculation with virulent bacillus influenzae. Journ. of inf. diseas. **28**, 201. 1921.

[2]) S. Fußnote 3c S. 456.



berichtet, daß auf Samoa 80 % der braunen Bevölkerung der Seuche zum Schlachtopfer gefallen seien, daß eine große Zahl von Indianern in Amerika ihr Leben eingebüßt habe, daß Neuseeland heftig befallen war; das entsetzliche Wüten der Pandemie in Indien wurde schon oben erwähnt. Das legt den Gedanken nahe, daß wir die Hochzüchtung des Virus dem Umstande zuzuschreiben haben, daß die schwarzen und braunen Hilfsvölker der Entente auf europäischem Boden mit dem hier endemischen Virus in Berührung gekommen und mit ihrer unverminderten Empfänglichkeit der Nährboden für die hochvirulente Form des Erregers geworden seien. Wir hätten hier also ein Gegenstück für das bekannte epidemische Bild der Masern auf den Faröer Inseln. Die Herkunft der älteren Influenzapandemien aus fernen Ländern würde dann ein Trugschluß sein. In Wahrheit wäre die Krankheit von Europa aus jedesmal erst in diese völlig grippefreien Gegenden eingeschleppt worden, um als fürchterliches Gastgeschenk von dort zurückzukommen.“



(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin [Abteilungsleiter: Dr. *O. Schiemann*].)

Beiträge zur Pneumokokkenimmunität.

I. Mitteilung.

Über die Spezifität der Pneumokokkentypen und über die Grenzen dieser Spezifität.

Von

Dr. Masaaki Yoshioka,

Professor der med. Frauen-Hochschule zu Tokio.

Wie bekannt, sind die Beobachtungen von *Neufeld* und *Händel* über die serologische Verschiedenheit der Pneumokokkentypen durch die Arbeiten von *Cole* und seinen Mitarbeitern u. a. bestätigt und erweitert worden. Danach wirken, abgesehen von einzelnen als „atypische Varietäten“ des amerikanischen Typus II bezeichneten Pneumokokkenstämmen, welche zur Gruppe IV gehören, aber daneben eine schwache Mittagglutination mit dem Serum von Typus II zeigen, die mit einem Stamm erzeugten Sera sowohl im Agglutinations- wie im Schutzversuch streng spezifisch nur auf Angehörige desselben Typus. Insbesondere ist zwischen den beiden Haupttypen I und II weder im Agglutinationsversuch noch im Schutzversuch an Mäusen ein Übergreifen der Wirkung beobachtet worden (*Neufeld* und *Händel*, Kolle-Wassermanns Handbuch, 2. Aufl., 4, 546; Monograph 7 des Rockefeller-Instituts, S. 44). Diese strenge Spezifität hat jüngst *Griffith* (Reports on public health and medical subjects Nr. 13, London 1922) bestätigt; er fand auch bei Mäusen, die simultan mit virulenter Kultur und Immunserum vorbehandelt waren, keine Immunität gegen heterologe Typen.

Im Gegensatz dazu haben *Cecil* und *Austin* bei aktiver Immunisierung beim Menschen überraschenderweise beobachtet, daß durch Be-



handlung mit einem Impfstoffgemisch der Pneumokokkentypen I bis III ein Schutz nicht nur gegen diese Typen, sondern auch gegen Infektionen der Gruppe IV, ja sogar gegen die Erkrankungen an Streptokokkenpneumonie auftrat (Journal of experimental Medicine 28, 34). Die Autoren haben, wie sie sagen, keine Erklärung für das Übergreifen des Schutzes auf immunisatorisch fremde Typen. Sie meinen, das Übergreifen auf die Pneumokokkengruppe IV könnte die Annahme einer gekreuzten Immunisierung nahelegen, diese Theorie sei aber kaum zulässig, wenn man feststellt, daß dieselbe günstige Wirkung gegenüber der Streptokokkenpneumonie eintritt. Bei der Besprechung dieser Beobachtungen hat *Neufeld* (Deutsch. med. Wochenschrift Nr. 2, 1922) auf ihre große Bedeutung vom Standpunkt der allgemeinen Immunitätslehre hingewiesen, die eine eingehendere Untersuchung verlange; „man dürfe vor der Annahme nicht zurückschrecken, daß bei diesen im Grunde einander doch recht nahestehenden Erregern im Gegensatz zu der äußerst strengen Spezifität der ins Blut abgestoßenen Antikörper bei aktiver Immunisierung am Menschen umgekehrt eine weit übergreifende Immunität eintritt."

Liegt nun aber in der Tat eine merkwürdige Inkongruenz zwischen dem Verhalten bei aktiver Immunisierung und den im Blut auftretenden Antikörpern vor? Jedenfalls ergab sich die Notwendigkeit sowohl die Erscheinungen der aktiven wie der passiven Immunität genauer wie bisher auf Typenspezifität zu prüfen, und zwar an verschiedenen Tierarten. Insbesondere schien es mit Rücksicht auf die von der Internationalen Serumkonferenz in London im Dezember 1921 angeregten Untersuchungen über das Vorkommen der einzelnen Pneumokokkentypen und über Pneumokokkensera erwünscht, die Grundlagen der Typenlehre und die etwaigen Grenzen der Typenspezifität erneut zu prüfen.

Die Beobachtungen von *Cecil* und *Austin* sind an einem ziemlich großen Material erhoben worden, wobei allerdings die Geimpften nur 10 Wochen lang nach der Impfung beobachtet wurden. Sie stehen anscheinend im Gegensatz zu *Listers* Versuchen (zit. nach *Cecil* und *Austin*) in Südafrika, der an einem großen, länger (6—12 Monate) beobachteten Material ein Kriterium für die Wirkung der Schutzimpfung gerade darin sieht, daß bei Erkrankungen der Geimpften das relative Verhältnis zwischen den einzelnen Typen der Pneumokokken sich einseitig zugunsten der im Impfstoff enthaltenen Typen ändert; er sieht gerade hierin einen deutlicheren Beweis für die Wirkung der Schutzimpfung, als im Rückgang der absoluten Krankheitsziffer an Pneumonien des betreffenden Typus. Wir kommen auf den Unterschied zwischen beiden Beobachtungsreihen noch zurück.



Zunächst seien unsere Versuche angeführt, wonach in der Tat unter bestimmten Bedingungen, die immunisatorische Spezifität der Typen durchbrochen wird.

Die Versuche bestehen einerseits in der Prüfung aktiv (mit abgetöteten Pneumokokken vom Typus I) immunisierter Mäuse auf den erlangten Schutz gegenüber Infektion mit Pneumokokken vom Typus I und II, andererseits in der Prüfung des Serums der mit Typus I bzw. II immunisierten Kaninchen auf Agglutinine und im Schutzversuch an Mäusen gegenüber allen 3 Typen des Pneumokokkus.

Wie schon *Neufeld* (a. a. O.) hervorgehoben hat, haben *Cecil* und *Blake* (Journ. Exp. Med. **31**, 657 u. 685. 1920) bei einigen Affen, die mit lebenden Pneumokokken vom Typus I vorbehandelt waren, einen gewissen Grad von Immunität auch gegen Infektion mit Typus II und III (nicht aber gegen IV) gefunden. Im Serum waren zur Zeit der Prüfung auf aktive Immunität nicht immer Agglutinine und schützende Antikörper — auch nicht für den homologen Typus I — zu finden, trotzdem die betreffenden Affen sich hochgradig immun gegenüber der Infektion erwiesen. Einmal fand sich ein geringer Gehalt an Schutzstoffen gegenüber Typus-II-Pneumokokken, also eine serologisch nachweisbare übergreifende Immunität.

Wir haben zunächst mit abgetötetem Impfstoff einen Schutz gegenüber dem heterologen Pneumokokkentyp erzielt. Durch Vorbehandlung mit lebender Kultur haben wir später sowohl bei Mäusen wie Meerschweinchen einen noch stärkeren Schutz erreicht, und zwar in der Weise, daß mit abgetötetem Impfstoff von Typ I immunisierte Mäuse zuerst mit einer sicher tödlichen Dosis des Typus I und, als sie darauf nicht erkrankten, 3 Tage danach mit einer gleichfalls sicher tödlichen Dosis des Typus II geprüft wurden. Diese Tiere überlebten beide Infektionen, während jedesmal die Kontrollen der Infektion erlagen. Über diese Versuche soll jedoch erst später näher berichtet werden, ebenso über die Beobachtungen an Meerschweinchen, bei denen ebenfalls eine „gekreuzte“ Immunität auftrat.

Versuche mit aktiver Immunisierung von Mäusen.

Bei der Impfung wurden verschiedene Methoden benutzt. Es wurden intraperitoneale und subcutane Impfungen angewandt, größere und kleinere Impfmengen, kürzere und längere Intervalle zwischen den einzelnen Dosen. Die Prüfung auf Immunität erfolgte stets intraperitoneal. Vielleicht hängt es damit zusammen, daß die intraperitoneale Impfung (Tab. 3 u. 4) deutlich bessere Erfolge aufzuweisen hatte. Die Zeit zwischen der letzten Impfung und der Prüfung war ebenfalls

insofern von Einfluß, als 2 nach *einer* Woche geprüfte Tiere nur sehr geringen Schutz zeigten (sie starben verzögert gegenüber den Kontrollen); am besten scheint der Termin 2 Wochen nach der letzten Impfung zu sein, doch auch Infektion nach 3 oder 4 Wochen ergab eine Anzahl von Erfolgen. Dafür, daß kleine, täglich verabreichte Impfstoffmengen bessere Erfolge erzielen als große, in längeren Intervallen gegebene, wie das *Cole* und *Moore* (Journ. Exp. Med. **26**, 537. 1917) bei Kaninchenimmunisierung sahen, fanden wir in unseren Protokollen keine deutlichen Anhaltspunkte; allerdings lagen die Dosen bei unseren Versuchen auch nicht so weit auseinander, wie bei denen der genannten Autoren.

Zur *Immunisierung* wurden folgende Stämme benutzt: Pneumokokkenstämme Wachholz (Typus I: hier isoliert), die Stämme Am. I (Typus I), Am. II (Typus II), Am. III (Typus III) die aus dem Rockefeller Institut stammen; ferner ein Streptokokkenstamm (Aronson). Diese Stämme waren hochvirulent; sie töteten eine Maus in Dosen von 0,000 0001, und auch 0,000 00001 war gewöhnlich letal. Stamm Wachholz war noch virulenter als die anderen Stämme. Zur Impfstoffbereitung wurden die Kulturen auf festen (Blutagar) und flüssigen Nährböden (Serumbouillon) gezüchtet. Impfstoff: Die Aufschwemmung einer Blutagarkultur in Kochsalzlösung enthielt in 1 ccm 10 Ösen, Bouillonkultur wurde in Mengen von 100 ccm zentrifugiert und das Sediment in 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Benutzt wurde stets eine etwa 20stündige Kultur. Die Emulsionen von Blutagar und Bouillonkultur wurden auf 60° C während 20 Minuten erhitzt, auf ihre Sterilität geprüft und im Eisschrank aufbewahrt. Der Impfstoff wurde jede Woche frisch hergestellt und die zur Impfung gebrauchte Menge nach Schütteln den Mäusen subcutan oder intraperitoneal injiziert. Folgende 3 Verfahren kamen zur Anwendung: 1. 3 Injektionen während 2 Wochen (also jede Woche eine Injektion); 2. es wurde 3 Tage lang täglich 1 mal oder 3. an einem Tage 6 mal in $^1/_2$ stündlichen Intervallen geimpft. Die zum Versuch benutzten Mäuse waren möglichst gleich schwer (15—20 g). Die Impfdosis, Impfdauer und Prüfungszeit sind aus der Tabelle I zu ersehen. Bei der Prüfung auf Immunität wurden fast stets 0,00001 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur intraperitoneal injiziert, andernfalls habe ich in der Tabelle die betreffende Dosis angegeben. In der Regel wurde in jedem Versuche außer der bei den Versuchstieren gebrauchten Dosis von Pneumokokken als Kontrolle die 10fache geringere Dosis gegeben. Die Kontrolltiere starben stets nach 1 oder 2 Tagen. Nur dann, wenn auch das mit der geringeren Dosis infizierte Kontrolltier starb, sind die betr. Tiere in die folgenden Tabellen aufgenommen.

Tabelle I. Aktive Immunisierung von Mäusen. **Impfung mit Stamm Am. I subcutan; Nachprüfung i. p., soweit nicht anders vermerkt, mit 0,000 01 ccm.**

Impfstoff aus Bouillon- oder Blutagarkultur. + bedeutet: das Tier stirbt mit den Kontrollen; 0 es ist geschützt; ± es stirbt verzögert. In der untersten Zeile sind die mit jedem Stamm infizierten Tiere summiert. 5 : 0 (1) bedeutet: von insgesamt 5 Tieren wird keins gerettet, 1 stirbt verzögert.

Impfstoffdosen	Dauer der Vorbehandlung	Zeit der Prüfung nach der letzten Impfung	Infektion erfolgt intrap. mit Stamm			
			Am. I	Wachholz	Am. II	Streptokokken
1/5, 1/2, 1 Öse	14 Tage	21 Tage	+	·	+	+ + +
1/25, 4/10, 1/5 Öse	14 „	21 „	+	·	+ +	,
1/8, 1/4, 1/2 ccm	14 „	13 „	0	·	·	·
1/8, 1/4, 1/2 „	14 „	17 „	0,000 1 0	·	0,00000 1 ±	·
1/8, 1/4, 1/2 „	14 „	17 „	·	·	+	0,00000 1 +
		Insgesamt:	4 : 2	·	5 : 0 (1)	4 : 0

Bei der aktiven Immunisierung mit Stamm Am. I ist also gegen den heterologen Typus (Am. II) keine volle Immunität, nur einmal ein geringfügiger Schutz erzielt worden. Anders dagegen war der Erfolg bei der Immunisierung mit Stamm Wachholz, wobei allerdings auch eine größere Zahl von Versuchen angestellt wurde.

Tabelle II. **Impfung mit Stamm Wachholz subcutan; Infektion i. p., soweit nichts anderes bemerkt, mit 0,000 01 ccm.**

Impfstoffdosen	Dauer der Vorbehandlung	Zeit der Prüfung nach der letzten Impfung	Infektion erfolgt mit Stamm			
			Wachholz	Am. I	Am. II	Streptokokken
1, 2, 3 Öse	14 Tage	35 Tage	·	±	0	·
1/5, 1/2, 1 „	14 „	35 „	·	+	±	·
1/25, 1/2, 1 „	14 „	35 „	·	±	+	·
1/5, 1/2, 1 „	12 „	24 „	·	0	0	+ +
1/25, 1/2, 1 „	12 „	24 „	·	0	0	+
1, 2, 3 ccm	14 „	25 „	0	±	+	+
1/8, 1/4, 1/2 ccm	14 „	25 „	0	0	+	·
2, 2, 2 cm	3 „	30 „	+	0	+	+
1/3, 1/3, 1/3 ccm	3 „	30 „	+	0	+	+
0,5 (6×)	1 Tag	27 „	0	+ +	+ +	·
1, 1, 1 ccm	15 Tage	8 „	±	·	·	·
1, 1, 1 „	15 „	15 „	0	·	±	·
1, 1, 1 „	15 „	15 „	·	·	0,000 001 0	·
		Insgesamt	7 : 4 (1)	11 : 5 (3)	13 : 4 (2)	6 : 0

Bei der Immunisierung mit Stamm Wachholz ist deutlicher Schutz gegen den homologen (I) und heterologen Typus (II) erzielt worden, sie schützte bei Prüfung gegen Stamm Wachholz von 7 Tieren 4 und verzögerte außerdem den Tod bei 1 Tier; gegen Am. I 5 von 11 Mäusen und verzögert den Tod bei 3; ebenso schützte sie gegen Infektion mit Stamm Am. II 4 von 13 Tieren und verzögert außerdem den Tod bei 2. Gegen Streptokokken ergab die Immunisierung keinen Schutz.

Tabelle III.

Impfung mit Stamm Wachholz, intraperitoneale Injektion. Impfstoff aus Bouillonkultur. Infektion i. p., soweit nichts anderes bemerkt, mit 0,000 01 ccm.

Impfstoffdosen	Dauer der Vorbehandlung	Zeit der Prüfung nach der letzten Impfung	Infektion erfolgt mit Stamm			
			Wachholz	Am. I	Am. II	Streptokokken
0,5 (6 ×) ccm	1 Tag	8 Tage	±	·	·	·
0,5 (6 ×) „	1 „	14 „	0	·	·	·
0,5 (6 ×) „	1 „	16 „	·	±	0,000 001 +	0,000 000 1 +
0,5 (6 ×) „	1 „	16 „	·	0,000 001 0	0,000 000 1 ±	0,000 000 01 +
1, 1, 1 „	14 Tage	21 „	0	±	+ +	·
1, 1, 1 „	3 „	21 „	0	·	·	·
1, 1, 1 „	3 „	24 „	0	0	+	0,000 001 +
1, 1, 1 „	3 „	24 „	·	+	0,000 001 0	·
		Insgesamt	5 : 4 (1)	5 : 2 (2)	6 : 1 (1)	3 : 0

Die intraperitoneale Immunisierung mit Stamm Wachholz schützte also gegen den heterologen Typus von 6 Mäusen 1 und verzögerte einmal den Tod.

Tabelle IV.

Impfung mit Stamm Am. II (in Bouillonkultur) durch intraperitoneale Injektion. Infektion i. p., soweit nichts anderes bemerkt, mit 0,000 01 ccm.

Impfstoffdosen	Dauer der Vorbehandlung	Zeit der Prüfung nach der letzten Impfung	Infektion erfolgt mit Stamm		
			Am. II	Am. I	Wachholz
1, 2, 3 ccm (sc.)	14 Tage	20 Tage	0	±	·
1, 2, 3 „ „	14 „	20 „	·	+	·
0,5 (6 ×) (ip.)	1 Tag	14 „	0	+	·
0,5 (6 ×) „	1 „	14 „	0,000 001 0	0,000 001 +	0,000 001 +
0,5 (6 ×) „	1 „	14 „	·	0,000 000 1 +	0,000 000 1 0
0,5 (6 ×) „	1 „	16 „	0,000 001 0	0,000 001 +	0,000 001 +
0,5 (6 ×) „	1 „	16 „	·	0,000 000 1 0	0,000 000 1 0
		Insgesamt	4 : 4	7 : 1 (1)	4 : 2



Diesmal wurde nach Immunisieren mit Am. II der Schutz gegen Stamm Wachholz und Am. I geprüft. Die Immunisierung mit Am. II schützte 3 unter 11 Tieren gegen den heterologen Typus.

Ergebnisse: Wie aus den eben angegebenen Tabellen sichtbar ist, findet ein deutlicher Schutz obwohl schwächer, auch gegen den heterologen Typus statt. Die Immunisierung mit Typus I (Am. I, Wachholz) hat gegen den homologen Typus (Am. I, Wachholz) 17 mal geschützt und 7 mal verzögert bei einer Gesamtzahl von 32, gegen den heterologen Typus (Am. II) 5 mal geschützt und 4 mal verzögert, bei einer Gesamtzahl von 24, gegen Streptokokken hat sich bisher bei einer Gesamtzahl von 13 Fällen kein Schutz ergeben. Der benutzte Streptokokkus war jedoch besonders virulent (dos. let. 0,000 000 001); es ist daher nicht ausgeschlossen, daß man mit weniger virulenten Stämmen positive Ergebnisse erhalten könnte. Die Immunisierung mit Typus II hat gegen den homologen Typus 4 mal geschützt bei einer Gesamtzahl von 4, gegen den heterologen Typus (Wachholz, Am. I) 3 mal geschützt und 1mal verzögert bei einer Gesamtzahl von 11.

Nach Tab. II und besonders III scheint der Schutz gegen den eigenen Stamm (Wachholz) durchschnittlich etwas stärker zu sein, als gegen den homologen Stamm Am. I, obwohl letzterer weniger virulent ist.

Eine Zusammenfassung aller Resultate gibt nachstehende Tab. IVa.

Übersichtstabelle IVa.

	Mäuse wurden geschützt gegen den		
	eigenen Stamm	homologen Stamm	heterologen Stamm
Vorbehandlung mit Typ I	16 : 10 (2)	16 : 7 (5)	24 : 5 (4)
„ „ Typ II	4 : 4	·	11 : 3 (1)
I u. II zusammen	20 : 14 (2)	16 : 7 (5)	35 : 8 (5)
	36 : 21 (7)		

NB. 16 : 10 (2) bedeutet: von 16 Tieren sind 10 geschützt, 2 verzögert gestorben.

Über die Spezifität der Sera immunisierter Kaninchen.

Um Kaninchen zu immunisieren, habe ich im Anschluß an *Cole* und *Moore* folgendes Verfahren benutzt. Eine 24stündige Bouillonkultur wurde in einer Menge von 100 ccm zentrifugiert und das Sediment in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Emulsion, während 20 Minuten auf 60° C erhitzt und auf ihre Sterilität geprüft. Dann wurde die betreffende Menge nach der Verdünnung bis zum ursprünglichen Volumen auf 100 ccm intravenös dem Kaninchen injiziert. Die sonstigen Resultate der Immunisierung des Kaninchens sind einer späteren Mitteilung vorbehalten. Hier werden wir nur über das Übergreifen der Serumwirkung bei allen Typen berichten.

1. *Agglutination.* Die Prüfungsmethode: Zur Agglutinationsprüfung wurden Uhlenhuthröhrchen benutzt. Die Mischung von Kultur und Serum hatte ein Gesamtvolumen von 0,5 ccm, davon 0,1 ccm die jeweilige Serummenge in Kochsalzlösung verdünnt und 0,4 ccm 24stündige Bouillonkultur. Die Röhrchen ließ ich 2 Stunden bei 37° C stehen, dann wurde die Agglutination makroskopisch und mikroskopisch geprüft, hierauf 24 Stunden bei 37° C stehengelassen und dann nochmals geprüft. Bei allen Kaninchen erfolgte die Blutentnahme am 7. Tage nach der letzten Impfung, das Blut ließ ich einen Tag im Eisschrank stehen, zentrifugierte dann und benutzte das Serum zum Versuch zunächst in aktivem Zustande.

Kaninchen Nr. 986, 987, 988, 293, 783 wurden mit Stamm Wachholz, (Typus I) Nr. 148 mit Am. II (Typus II) immunisiert. Ich habe etwa mit 20 Kaninchensera die Agglutination gegen verschiedene Typen geprüft. Wenn man die Agglutination innerhalb von 4 Tagen nach der Blutentnahme prüft, wird man stets das Übergreifen gegen alle Typen sehen. Aber in obiger Tabelle sind nur die Fälle des deutlichsten Übergreifens gegen verschiedene Typen mitgeteilt. Wie die Tabelle zeigt, agglutinieren diese Sera zum Teil den heterologen Typus in höherer Verdünnung, als den homologen Stamm. Aber die übergreifende Agglutination wird mit der Zeit nach und nach abgeschwächt und innerhalb von 16 Tagen ging sie gänzlich verloren (das zeigt die Tabelle), d. h. alle Sera reagieren dann gänzlich spezifisch. In der Tabelle werden die Resultate nach 24 Stunden bei 37° C wiedergegeben. Auch nach 2 Stunden bei 37° C findet gegen den heterologen Typus ein Übergreifen statt, der Grad des Übergreifens ist aber schwächer, als nach 24 Stunden. Wenn wir nach 2 Stunden mikroskopierten, sahen wir nur die Agglutination. Wenn man aber nach 24 Stunden mikroskopiert, sieht man neben der Agglutination die Präcipitation, und zwar besonders stark bei Typus II und III.

Durch $^1/_2$stündiges Inaktivieren bei 56° C wird die Agglutination auch für den heterologen Typus nicht abgeschwächt. Ich prüfte mehrere Sera in dieser Weise und fand z. B. bei dem Serum eines mit Pneum. Wa. (Typus I) immunisierten Kaninchens 7 Tage nach der Blutentnahme in aktivem und inaktiviertem Zustande gleichhohe Werte für Typus I (1:200) und Typus II (1:50); bei einem 2 Tage nach der Blutentnahme untersuchten Serum ergab sich ebenfalls keine Abnahme des Titers durch Inaktivieren.

2. *Schutzversuche.* Zu diesen Versuchen habe ich die Methode von *Neufeld* und *Händel* benutzt. Die Prüfung wird an Mäusen von 15 bis 20 g vorgenommen. Die Serumverdünnung wird intraperitoneal eingespritzt. Die Verdünnung wird immer in 0,3 ccm Flüssigkeit hergestellt. Die Kultur (24stündige Serumbouillonkultur), deren Dosis,



Tabelle V. Untersuchung der Spezifität frischer Sera immunisierter Kaninchen in aktivem Zustande.

Prüfung in vitro auf Agglutinine und auf schützende Antikörper an Mäusen. Das Serum ist bei der Agglutination 1 : 2, 5, 10 usw., im Schutzversuch 1 : 3 : 10 usw. abgestuft. 0,003 bedeutet: 0,003 schützt, 0,001 nicht mehr, 0,003... bedeutet: geringere Dosen wurden nicht geprüft. + = Schutz, 0 = kein Schutz.

Nr. Kaninchen (immunisiert mit Stamm)	Stamm	Prüfung (16. II.) nach 8—4 Tagen Agglutinationstiter	Prüfung (24. II.) nach 8—10 Tagen Agglutinationstiter	Prüfung (28. II.) nach 16 Tagen Agglutinationstiter	Prüfung (18. II.) nach 6 Tagen Schutzwert	
					Schutz	Serumdosis
986 (Wa., Typ I) 12. II. Blutentnahme	Wachholz	+ 1 : 200	·	± 1 : 200	+	0,003 ...
	Am. I	+ 1 : 100	·	+ 1 : 50	+	0,001 ...
	Am. II	+ 1 : 100	·	0 1 : 2	0	0,1
987 (Wa., Typ I) 12. II. Blutentnahme	Wachholz	+ 1 : 50	·	+ 1 : 50	+	0,003 ...
	Am. I	+ 1 : 50	·	± 1 : 50	+	0,003
	Am. II	+ 1 : 100	·	± 1 : 2	0	0,1
988 (Wa., Typ I) 12. II. Blutentnahme	Wachholz	± 1 : 200	± 1 : 200	+ 1 : 100	+	0,003 ...
	Am. I	+ 1 : 50	+ 1 : 50	+ 1 : 50	+	0,001 ...
	Am. II	+ 1 : 200	± 1 : 2	0 1 : 2	0	0,1
			Prüfung (18. III.)			
293 (Wa., Typ I) 10. III. Blutentnahme	Wachholz	·	± 1 : 50	·	·	·
	Am. II	·	± 1 : 100	·	·	·
		Prüfung 31. V. nach 8 Tagen				
148 (Am. II, Typ II) 29. V. Blutentnahme	Am. I	+ 1 : 10	·	·	·	·
	Am. II	+ 1 : 20	·	·	·	·
	Am. III	+ 1 : 50	·	·	·	·
783 (Wa., Typ I) 29. V. Blutentnahme	Am. I	+ 1 : 20	·	·	·	·
	Am. II	+ 1 : 50	·	·	·	·
	Am. III	+ 1 : 20	·	·	·	·

0,0001 (etwa das 100-fache der letalen Dosis) stets in 0,2 ccm Flüssigkeit aufgefüllt wird, wird 3 Stunden später ebenfalls intraperitoneal eingespritzt. Ich habe mit frischen aktiven Sera das Übergreifen im Schutzversuch mit verschiedenen Typen geprüft. Aber wie die Tabelle zeigt, kann man mit 0,1 ccm Serum von einem Typus nicht gegen Infektion mit 0,0001 Kultur von anderen Typen schützen. Darum habe ich mit einer geringen Kulturmenge nochmals geprüft, ob ein Serum von einem Typ gegen Kultur vom heterologen Typ schützen kann. (Vgl. die nachstehende Tabelle.)

Hiernach waren unsere Sera im Schutzversuch ganz spezifisch, während bei der Agglutination frisches Serum auch den heterologen Typ, zuweilen recht hoch, beeinflusste.

A. *Serum* des mit Stamm Rat. (Typus II) immunisierten Kaninchens 134. (Schutzwert gegen Typus II: 0,001 Serum schützt gegen 0,0001 Kultur. Agglutination mit Typus II 1 : 100 +, mit Typus I 1 : 50 ±)

Serummenge		Kulturmenge von Am. I (Typus I)	
0,1	Maus 1	0,000 001	tot nach 2 Tagen
0,1	„ 2	0,000 0001	„ „ 2 „
0,01	„ 3	0,000 001	„ „ 2 „
0,01	„ 4	0,000 0001	„ „ 2 „
Kontrolle	„ 5	0,000 0001	„ „ 2 „
„	„ 6	0,000 00001	„ „ 2 „

B. *Serum* des mit Stamm Wachholz (Typus I) immunisierten Kaninchens 987. (Schutzwert gegen Typus I: 0,001 Serum schützt gegen 0,0001 Kultur.)

Serummenge		Kulturmenge von Am. II (Typus II)	
0,1	Maus 1	0,000 01	tot nach 2 Tagen
0,1	„ 2	0,000 001	„ „ 2 „
0,1	„ 3	0,000 0001	„ „ 2 „
Kontrolle	„ 4	0,000 0001	„ „ 2 „
„	„ 5	0,000 00001	„ „ 2 „

Es konnte also wie bei Untersuchung der aktiven Immunität immunisierter Mäuse, auch bei der Untersuchung der Sera immunisierter Kaninchen, ein Übergreifen der Antikörper auf den heterologen Typus bisher allerdings nur bezüglich der Agglutinine nachgewiesen werden. Wie eingangs erwähnt, haben *Cecil* und *Blake* im Serum von Affen, die mit lebenden Pneumokokken immunisiert waren, gelegentlich auch Schutzkörper, die gegen den heterologen Typ gerichtet waren, nachgewiesen, was in unseren Versuchen an Kaninchen bei Verwendung abgetöteten Impfstoffes nicht gelang. Da die heterologen Antikörper bei längerem Stehen besonders schnell verschwinden, liegt es nahe zu fragen, ob auch beim aktiven Schutz dasselbe der Fall ist. Bisher ist das wohl nach unseren Versuchen nicht zu entscheiden, neue Versuche zwecks Nachprüfung nach größeren Intervallen sind abzuwarten. Vielleicht ist aber die Differenz zwischen der Beobachtung am Menschen bei *Cecil* und *Austin* einerseits, *Lister* andererseits auf die verschieden lange Zeit der Beobachtung zurückzuführen. Wie erwähnt, haben erstere, die ein Übergreifen der Immunität auf andere Typen fanden, ihre Schutzgeimpften nur kurze Zeit, nämlich 10 Wochen, letztere die einen Schutz nur gegen die in dem Impfstoff enthaltenen Typen sahen, dagegen bis zu 12 Monaten beobachtet.

Autorenverzeichnis.



